

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК (616.37-089.87-084-06): 615.849.19

**СТЕНЬКО  
АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**НИЗКОИНТЕНСИВНАЯ ЛАЗЕРНАЯ И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ  
ТЕРАПИЯ В ПРОФИЛАКТИКЕ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ РЕЗЕКЦИИ  
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук  
по специальности 14.00.27 – хирургия

Гродно, 2007

Работа выполнена в УО «Гродненский государственный медицинский университет»

**Научный руководитель:**

Жук Игорь Георгиевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии УО «Гродненский государственный медицинский университет»

**Официальные оппоненты:**

Мармыш Геннадий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры общей хирургии УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Завада Николай Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неотложной хирургии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

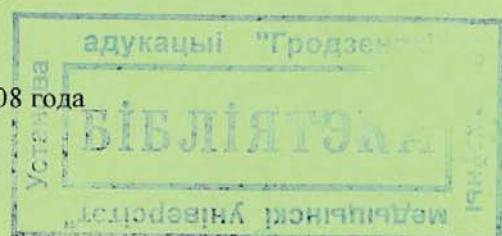
**Оппонирующая организация:** УО «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 14 марта 2008 года в 14<sup>00</sup> на заседании совета по защите диссертаций Д 03.17.01 при УО «Гродненский государственный медицинский университет» по адресу: 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80; E-mail: science@grsmu.by; телефон ученого секретаря: 8(0152)-433352.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «12» февраля 2008 года

Ученый секретарь  
совета по защите диссертаций,  
доктор медицинских наук, профессор



O. D.

О.И. Дубровщик

## **ВВЕДЕНИЕ**

В панкреатологии различные виды резекций поджелудочной железы остаются самыми распространенными операциями на этом органе (Ли А.Б., 1991; Ionescu A., 1995). Несмотря на совершенствование оперативной техники, соблюдение принципа анатомичности, расширение арсенала средств и способов обработки культи железы, летальность при данном виде оперативного вмешательства остается на высоком уровне (13,8-16,5%), а частота послеоперационных осложнений не имеет тенденции к снижению (Barbulescu V., 1996; Данилов М.В., 2001; van Heek N.T., 2005; Жук И.Г., 2006; Завада Н.В., 2006).

Основной причиной смертности при резекции поджелудочной железы является развитие в 1,9-20,1% послеоперационного панкреатита (Бойко Ю.Г., 1992; Липатов В.А., 2007).

Другие виды осложнений, такие как свищи (2,1-12,2%), ложные кисты (8-16%), абсцессы поджелудочной железы (2,24-8,4%), ферментативный перитонит (13,5-18%) и позднее кровотечение, как правило, являются следствием развивающегося панкреатита (Шалимов С.А., 1990; Пугаев А.В., 1995; Леонович С.И., 2002; Третьяк С.И., 2002; Ермолов А.С., 2003).

Путем своевременно начатой комплексной консервативной терапии у большинства больных удается достичь благоприятного результата и не допустить возникновения гнойно-некротических осложнений. Основные направления ее – купирование процессов воспаления и некроза в поджелудочной железе, улучшение микроциркуляции, обеспечение асептического течения процесса, гемодилюция и дезинтоксикация, поддержание жизненно важных функций организма и борьба с полиорганной недостаточностью (Решетников Е.А., 1998; Шугаев А.И., 1999; Малиновский Н.Н., 2000; Добровольский С.Р., 2004). Однако, как показала практика, даже комплексное применение существующих способов профилактики не всегда защищает от развития вышеуказанных осложнений при резекции поджелудочной железы.

Таким образом, проблема послеоперационных осложнений при резекции поджелудочной железы существует и окончательно не решена, что обуславливает дальнейшие поиски способов ее решения.

В последнее время отмечается интенсивное внедрение низкоинтенсивного лазерного излучения в практическую медицину. Уникальные свойства лазерного луча открыли широкие возможности его

---

**Перечень условных обозначений:**

**НИЛИ** – низкоинтенсивное лазерное излучение

**ФДТ** – фотодинамическая терапия

применения в различных областях: хирургии, терапии, педиатрии. Действие данного вида терапии основано на регенераторном, противовоспалительном, обезболивающем, иммунокорригирующем, десенсибилизирующем, антиоксидантном эффектах и способности улучшать микроциркуляцию (Гамалея Н.Ф., 1988; Козлов В.И., 1992; Васильев А.П., 2003; Смотрин С.М., 2005).

Первые опыты использования фотодинамической терапии в лечении неонкологических заболеваний дали, несомненно, положительный результат. Высокая эффективность ее была показана в лечении многих инфекционных процессов, в том числе и длительно не заживающих гнойных ран. Фотодинамическая терапия позволяет сократить сроки очищения и гранулирования ран, купирования перифокальных воспалительных явлений, значительно стимулирует репаративные процессы, начало эпителизации, способствует быстрому очищению ран от патогенной микрофлоры (Hamblin M.R., 2003; Дуванский В.А., 2004; Гейниц А.В., 2005). При этом эффективность данного метода не зависит от спектра чувствительности патогенных бактерий к антибиотикам, противомикробное действие не уменьшается со временем, а бактерицидный эффект носит локальный характер, не оказывая системного действия на нормальную флору организма (Luksiene Z., 2005; Пальчун В.Т., 2007).

В связи с вышеизложенным представляется актуальным изучение эффективности применения низкоинтенсивного лазерного излучения и фотодинамической терапии для профилактики послеоперационного панкреатита и инфекционных осложнений при резекции поджелудочной железы.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Связь работы с крупными научными темами

Диссертация выполнена согласно плана научно-исследовательской работы кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Гродненского государственного медицинского университета: «Применение низкоинтенсивного лазерного излучения в лечении острой патологии брюшной полости в эксперименте» (номер государственной регистрации 2006609).

### Цель и задачи исследования

**Цель исследования:** Экспериментально обосновать применение низкоинтенсивного лазерного излучения и фотодинамической терапии в профилактике послеоперационных осложнений при резекции поджелудочной железы.

### **Задачи исследования:**

1. В эксперименте изучить патоморфологические и ультраструктурные изменения в культе поджелудочной железы, лежащие в основе развития послеоперационных осложнений при резекции этого органа.
2. Оценить влияние низкоинтенсивного лазерного излучения ( $\lambda = 0,67 \text{ мкм}$ ,  $P = 25,5 \text{ мВт/см}^2$ ) на состояние микроциркуляторного русла и динамику репаративных процессов в культе поджелудочной железы.
3. Изучить влияние низкоинтенсивного лазерного излучения ( $\lambda = 0,67 \text{ мкм}$ ,  $P = 25,5 \text{ мВт/см}^2$ ) на состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса при резекции поджелудочной железы в эксперименте.
4. Доказать эффективность применения фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором нильским синим для профилактики инфицирования культуры поджелудочной железы при ее резекции.

### **Объект и предмет исследования**

**Объект исследования:** лабораторные животные (180 белых беспородных крыс-самцов), чистая культура *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Предмет исследования:** патоморфологические и ультраструктурные изменения в зоне резекции органа, бактериоскопическое исследование мазков-отпечатков, показатели роста *Escherichia coli* и состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Резекция поджелудочной железы сопровождается развитием острого панкреатита, выраженными нарушениями микроциркуляции, снижением биосинтетической и репаративной активности клеток и высокой вероятностью инфицирования культуры органа.
2. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения ( $\lambda = 0,67 \text{ мкм}$ ,  $P = 25,5 \text{ мВт/см}^2$ ) в послеоперационном периоде при резекции поджелудочной железы оказывает стимулирующее влияние на течение репаративных процессов в культе органа на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях.
3. Низкоинтенсивное лазерное излучение ( $\lambda = 0,67 \text{ мкм}$ ,  $P = 25,5 \text{ мВт/см}^2$ ) корректирует дисбаланс прооксидантно-антиоксидантной системы при резекции поджелудочной железы.
4. Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором нильским синим обладает выраженным antimикробным действием и предотвращает развитие инфекционных осложнений при резекции органа.

## **Личный вклад соискателя**

Работа выполнена на базе кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии и Центральной научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный медицинский университет». Автором и научным руководителем определены цель, задачи, методы и объем исследований. Автором совместно с сотрудниками электронно-микроскопической, морфологической групп, группы по изучению газотранспортной функции крови Центральной научно-исследовательской лаборатории, кафедр микробиологии, иммунологии и вирусологии им. С.И. Гельберга и патологической анатомии УО «Гродненский государственный медицинский университет» выполнены электронно-микроскопические, морфологические, биохимические, микробиологические исследования. Автор самостоятельно провел статистическую обработку и анализ полученных данных. В совокупности личный вклад автора в выполненной работе оценивается на 80%.

## **Апробация результатов диссертации**

Результаты исследований доложены и обсуждены на:

1. Конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора И.Я. Макшанова (Гродно, 2006 г.);
2. Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Белорусского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы морфологии» (Минск, 2006 г.);
3. 4-й международной научной конференции «Лазерная физика и оптические технологии» (Гродно, 2006 г.);
4. 2-й ежегодной итоговой конференции ЦНИЛ (Гродно, 2006 г.);
5. Конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора Г.В. Кулаго (Гродно, 2007 г.);
6. Заседании межкафедрального собрания Гродненского государственного медицинского университета (22.06.2007 г.).

## **Опубликованность результатов диссертации**

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, из них статей в рецензируемых научных изданиях – 4 (общим объемом 1,61 авторского листа), статей в сборниках материалов конференций – 1, тезисов – 6. Получено положительное решение по заявке на изобретение в Республике Беларусь № a20070296 от 07.06.2007 г. «Препарат для фотодинамического лечения и профилактики послеоперационного панкреатита и гнойных осложнений при резекции поджелудочной железы». Получены 4 удостоверения на рационализаторские предложения, 1 акт о внедрении результатов исследования

в учебный процесс, 1 справка о возможном внедрении результатов в практическое здравоохранение.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа написана на русском языке, изложена на 108 страницах машинописного текста, иллюстрирована 10 таблицами, 40 рисунками. Диссертация состоит из общей характеристики работы, 5 глав, заключения, библиографического списка, включающего 188 источников (99 отечественных, 78 иностранных, 11 авторских) и 7 приложений.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ**

### **Материал и методы**

Материалом для решения поставленных в настоящем исследовании задач послужили 180 белых беспородных крыс-самцов массой 200 – 250 грамм, которым под внутримышечным калипсоловым наркозом из расчета 0,5 мг/кг массы тела животного в условиях операционной выполняли резекцию поджелудочной железы. Верхним срединным разрезом вскрывали брюшную полость. В рану выводили селезёнку и поджелудочную железу. Производили мобилизацию и резекцию дистальной части железы по междольковым промежуткам с сохранением кровоснабжения селезенки (размер резецируемого участка – 1,5 см). Культи поджелудочной железы ушивали двумя П-образными швами (полипропилен 6/0) и погружали в брюшную полость. Операционную рану на передней брюшной стенке послойно ушивали. Характеристика экспериментального материала представлена в таблице 1.

После выполнения резекции поджелудочной железы животным второй серии эксперимента через операционную рану передней брюшной стенки воздействовали НИЛИ на культи органа в течение 5 минут. Облучение производили с помощью лазерного аппарата «Родник-1». В качестве источника излучения использовали непрерывный полупроводниковый лазер красной области спектра ( $\lambda = 0,67 \pm 0,02$  мкм;  $P = 20$  мВт). Данные параметры лазера являются общепринятыми, обладают регенераторным и противовоспалительным действиями (Гамалея Н.Ф., 1988; Буйлин В.А., 2002).

Животным третьей серии эксперимента интраоперационно орошили культи поджелудочной железы 1 мл стерильного водного раствора нильского синего концентрацией  $10^{-6}$  моль/л. Через 3 минуты активировали фотосенсибилизатор, облучая культи железы лазером с вышеуказанными параметрами в течение 5 минут.

В послеоперационном периоде крыс содержали в стандартных условиях вивария. Животным 2 и 3 серий проводили ежедневное воздействие НИЛИ с указанными выше параметрами на область проекции культи поджелудочной железы в течение 7 дней.

Таблица 1 – Характеристика экспериментального материала

Наименование серий экспериментальных исследований	Количество животных	Сроки опытов
Резекция поджелудочной железы	60	3 – 60 сут.
Резекция поджелудочной железы + НИЛИ	60	3 – 60 сут.
Резекция поджелудочной железы + ФДГ с фотосенсибилизатором нильским синим	60	3 – 60 сут.
Всего	180	

Крыс выводили из эксперимента на 3, 7, 14, 30, 60 сутки после операции. Вскрывали брюшную полость, производили оценку макроскопической картины, забор крови для биохимического исследования, мазков-отпечатков из культи поджелудочной железы для бактериоскопии, материала из зоны резекции органа для гистологического и электронно-микроскопического методов исследования.

*Гистологические методы.* Обработка гистологического материала проводилась по общепринятыму принципу с окраской препаратов поджелудочной железы гаматоксилином и эозином, азаном по Маллори.

Для изучения реакции микроциркуляторного русла поджелудочной железы после выполнения оперативных вмешательств производилась наливка сосудистого русла органа черной тушью по методу Н.А. Джавахишвили и М.Э. Комахидзе (1967).

*Электронная микроскопия.* Контрастировали ультратонкие срезы образцов ткани поджелудочной железы, приготовленные на ультрамикротоме MT-7000 ULTRA, 2%-ым раствором уранилацетата на 50% метаноле и цитратом свинца. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-100 CX при увеличениях 4,8 – 36000.

*Биохимические методы.* Определяли состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса в плазме крови, эритроцитах и ткани поджелудочной железы спектрофотометрическим измерением диеновых конъюгатов и оснований Шиффа. Активность каталазы и содержание токоферола определяли калориметрическим и флуоресцентным способами соответственно по общепринятым методикам.

*Микробиологические методы.* С целью изучения чувствительности микроорганизмов, имеющихся в местах резекции поджелудочной железы, к НИЛИ и ФДГ проводили эксперименты *in vitro* на патогенном штамме *Escherichia coli* (ATCC 25922) по общепринятой микробиологической методике.

Брали мазки-отпечатки из культуры поджелудочной железы с окраской по Граму.

*Морфометрия.* Производили измерение площади, занятой сосудистой сетью на захваченном кадре в реальном масштабе (%) с помощью компьютерного анализатора изображения BIOSCAN-NT. Подсчет клеточного состава гистологических препаратов проводили по методике Г.Г. Автандилова в 1  $\text{мм}^2$  ткани с помощью окулярной вставки со стороной матового квадрата 1 мм. Подсчет производили на увеличении в 400 раз (ок. -  $\times 10$ , об. -  $\times 40$ ) в 40 квадратах со стороной 10 мм.

*Статистический анализ.* Проведен процедурой пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Вычисляли средние величины, доверительный коэффициент Стьюдента, соответственно которому определяли вероятность ошибки.

## Результаты исследования

Анализ результатов резекции поджелудочной железы показал, что у экспериментальных животных на 3-7 сутки послеоперационного периода развивалась патоморфологическая картина характерная для острого деструктивного панкреатита (очаговые некрозы ацинарной ткани, кровоизлияния, воспалительная инфильтрация). В подавляющем большинстве случаев этот процесс носил ограниченный характер и затрагивал только непосредственно место рассечения железы. Однако в 13,3% случаев отмечалось прогрессирование травматического панкреатита с развитием панкреонекроза, что приводило к гибели экспериментальных животных.

Резекция поджелудочной железы сопровождалась изменением архитектоники микрососудистого русла культуры органа с морфологическими признаками стойкого снижения микроциркуляции: сужение и деформация сосудов, нарушение их целостности с образованием диффузных экстравазатов, уменьшение плотности артериоло-капиллярной сети.

В последующем (к 14-30 суткам) происходила резорбция и замещение очагов некроза грубоволокнистой соединительной тканью. При этом в участках поджелудочной железы, прилегавшим к месту резекции, отмечалась воспалительная инфильтрация, дистрофические и атрофические изменения ацинусов.

При электронномикроскопическом исследовании установлено, что в зоне резекции поджелудочной железы в панкреатоцитах и клетках соединительной ткани имелись признаки снижения их биосинтетической и репаративной активности: просветление матрикса и лизис крист отдельных митохондрий, умеренное развитие гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, уменьшение количества гранул зимогена, находившихся преимущественно на стадии созревания секрета, единичные «темные» клетки.

В 21,2% случаев у экспериментальных животных, перенесших резекцию поджелудочной железы, наблюдалось образование в области культуры абсцессов. Данное осложнение обусловлено инфицированием раневой поверхности железы в результате транслокации в брюшную полость микробной флоры кишечника (Пугаев А.В., 1995; Dervenis C., 2003; Щерба А.Е., 2005). В мазках-отпечатках, взятых из культуры поджелудочной железы, при бактериоскопии обнаруживалась преимущественно грамотрицательная flora.

Применение НИЛИ и ФДТ при резекции поджелудочной железы значительно снижало выраженность альтеративных и воспалительных изменений в культуре органа. Так, уже к 3 суткам после оперативного вмешательства обнаруживались лишь единичные очажки некроза со слабо выраженной перифокальной инфильтрацией, вокруг которых отмечалось формирование неспецифической грануляционной ткани.

К 7 суткам эксперимента нейтрофильно-эозинофильная инфильтрация снижалась по сравнению с контролем при применении НИЛИ на 66%, при ФДТ – на 68% ( $p < 0,001$ ). НИЛИ и ФДТ стимулировали пролиферацию и созревание клеточных элементов молодой соединительной ткани. При применении ФДТ отмечалось достоверное ( $p < 0,001$ ) смещение клеточного состава в сторону более зрелых клеток – фибробластов (таблица 2).

На 14 сутки в области резекции воспалительная инфильтрация по сравнению с контролем снижалась под воздействием НИЛИ на 74,3%, ФДТ – на 67% ( $p < 0,001$ ). Наблюдалась полная резорбция некротических очагов и формирование в зоне резекции тонкого соединительнотканного рубца, состоящего преимущественно из коллагеновых волокон и клеточных элементов, основную массу которого составляли фибробlastы.

На уровне микроциркуляторного русла в культуре поджелудочной железы отмечали формирование крупнопетлистой, полиморфной сети капилляров, что сопровождалось повышением плотности микрососудов. К 30 суткам послеоперационного периода плотность микрососудов при использовании НИЛИ увеличивалась по сравнению с контролем на 18,6% ( $p < 0,05$ ) (таблица 3).

Таблица 2 – Характеристика клеточного состава в области резекции поджелудочной железы

Срок	Группа	Количество клеток на $\text{мм}^2$ ткани в области резекции поджелудочной железы ( $M \pm m$ )				
		нейтрофилы	эозинофилы	лимфо-гистиоциты	фибробласти	фибронектины
7 суток	контроль	124 $\pm$ 6,381	71,2 $\pm$ 2,133	81,8 $\pm$ 3,336	49,6 $\pm$ 1,809	23,2 $\pm$ 1,552
	НИЛИ	52,2 $\pm$ 1,436*	14,2 $\pm$ 0,68*	51,8 $\pm$ 2,498*	41,2 $\pm$ 1,843**	27,2 $\pm$ 1,323
	ФДТ	49,6 $\pm$ 1,6*	12,8 $\pm$ 0,574*	44,6 $\pm$ 1,343*	33,8 $\pm$ 0,998*	33,2 $\pm$ 1,237*
14 суток	контроль	27 $\pm$ 1,491	8,8 $\pm$ 0,712	31,6 $\pm$ 0,806	40,2 $\pm$ 0,712	31,8 $\pm$ 0,975
	НИЛИ	7 $\pm$ 0,471*	2,2 $\pm$ 0,249*	18,4 $\pm$ 0,806*	8,2 $\pm$ 0,772*	45,8 $\pm$ 1,611*
	ФДТ	10 $\pm$ 0,869*	1,8 $\pm$ 0,533*	16,8 $\pm$ 0,249*	6,8 $\pm$ 0,712*	47 $\pm$ 0,869*

\* – изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,001$ )

\*\* – изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,01$ )

Таблица 3 – Морфометрические показатели плотности сосудистого русла культи поджелудочной железы

Сроки	Вид опыта	Плотность сосудистого русла, % ( $M \pm m$ )
14 сутки	Контроль	4,52 $\pm$ 0,23
	НИЛИ	4,75 $\pm$ 0,11
30 сутки	Контроль	5,7 $\pm$ 0,14
	НИЛИ	7,0 $\pm$ 0,29*

\* – изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

При сравнительном изучении ультраструктурных изменений в зоне резекции поджелудочной железы в контрольной и опытных сериях было выявлено, что НИЛИ и ФДТ стимулировали созревание клеток грануляционной ткани (фибронектинов) (рисунок 1). В ацинарной ткани обнаруживалось значительно больше активно делившихся и «темных» клеток. Под воздействием НИЛИ и ФДТ в панкреатоцитах и фибробластах происходило увеличение количества и размеров митохондрий: длины – на 28,2%, ширины – на 22,2% ( $p < 0,001$ ) (таблица 4), – ядерного материала, гранулярной

эндоплазматической сети, свободных рибосом и усиленное образование зимогеновых гранул, находившихся на разных стадиях созревания (рисунок 2).

Все эти ультраструктурные изменения свидетельствовали о том, что НИЛИ и ФДТ активизировали регенерацию в культе поджелудочной железы, ускоряя внутриклеточные энергетические, синтетические и секреторные процессы.

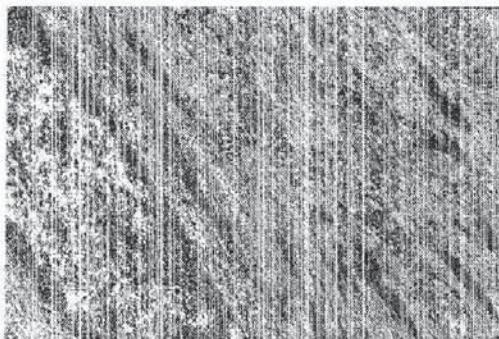


Рисунок 1 – Грануляционная ткань (ув. в 9000 раз)

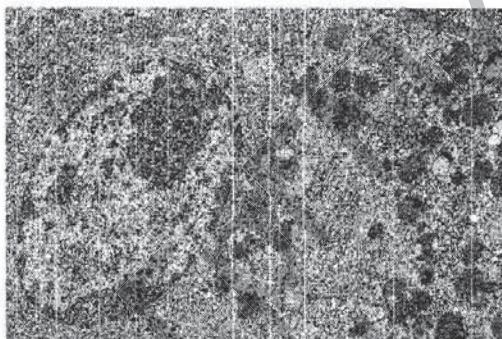


Рисунок 2 – Внутриклеточные органеллы (ув. в 7200 раз)

Таблица 4 – Размеры митохондрий

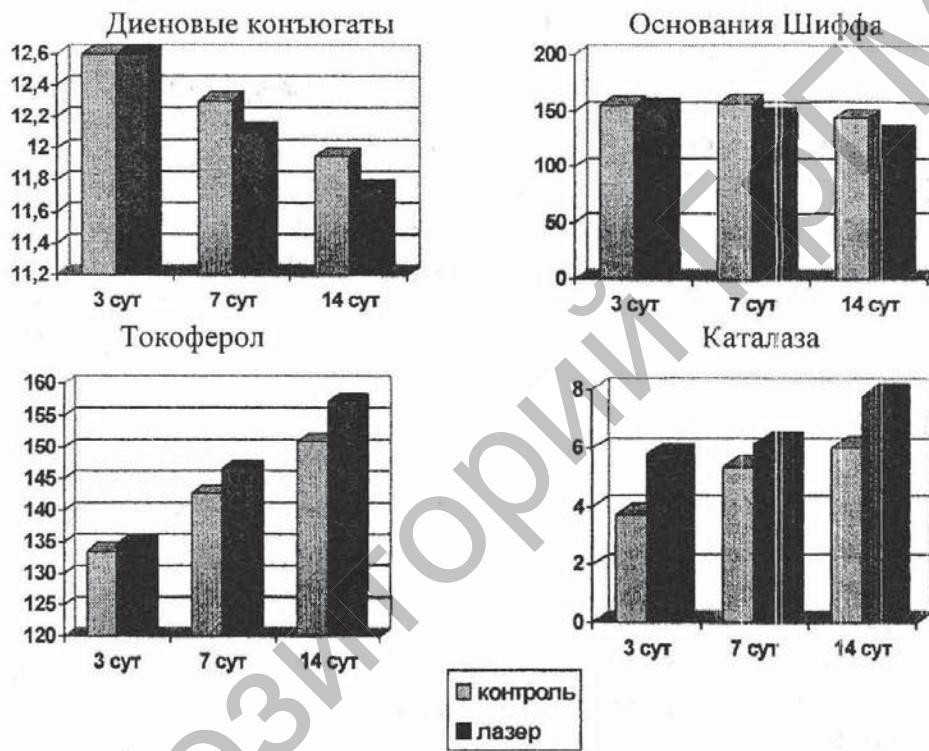
Группы	Размеры митохондрий (в метрах)	
	Длина митохондрии (M ± m)	Ширина митохондрии (M ± m)
Контрольная	$5,049 \pm 0,107 \times 10^{-7}$	$2,947 \pm 0,048 \times 10^{-7}$
НИЛИ	$7,033 \pm 0,077 \times 10^{-7}^*$	$3,786 \pm 0,037 \times 10^{-7}^*$

\* – изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,001$ )

Результаты исследования прооксидантно-антиоксидантного баланса в ткани культи поджелудочной железы выявили повышение концентрации первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов к 3 суткам во всех экспериментальных группах. В последующем к 14 суткам отмечалась тенденция к снижению уровня диеновых конъюгатов, более выраженная под воздействием НИЛИ: на 6,8% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с 5,2% ( $p < 0,001$ ) в контрольной группе. Содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов (оснований Шиффа) в ткани железы опытной серии снижалось на 16,0% ( $p < 0,001$ ) с 3 по 14 сутки. В то время как в контрольной серии колебания данного показателя были слабо выражены: незначительный подъем к 7 суткам с окончательным снижением его на 7,0% ( $p < 0,05$ ) с 3 по 14 сутки. Под воздействием НИЛИ наблюдалось усиление факторов антиоксидантной

защиты. Абсолютные значения фермента каталазы были выше такового в контрольной серии во все исследуемые сроки и прирост его к 14 суткам составил 25,6% ( $p < 0,01$ ). Концентрация токоферола в ткани железы с 3 по 14 сутки возросла на 14,1% ( $p < 0,001$ ), по сравнению с 11,4% ( $p < 0,001$ ) в контроле (рисунок 3).

Таким образом, НИЛИ способствовало нормализации прооксидантно-антиоксидантного баланса, что создавало благоприятные условия для адекватного заживления культуры поджелудочной железы.



**Рисунок 3 – Изменение показателей прооксидантно-антиоксидантной системы в ткани поджелудочной железы при ее резекции**

При сравнительном изучении *in vitro* antimикробной активности НИЛИ, нильского синего и ФДТ с нильским синим в отношении *Escherichia coli* было установлено, что применение НИЛИ активизировало рост кишечной палочки в агаровой культуре ( $p < 0,05$ ). Нильский синий оказывал резкое ингибирующее влияние на рост и размножение патогенного штамма *Escherichia coli*, достоверно снижая количество колоний в 9,7 раз по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). ФДТ с фотосенсибилизатором нильским синим наиболее эффективно подавляла рост кишечной палочки, уменьшая количество колоний на 99,4% по

сравнению с контрольной серией ( $p < 0,001$ ) и на 94,0% по сравнению с отдельным использованием нильского синего ( $p < 0,01$ ) (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты тестирования роста *Escherichia coli* в агаровой культуре

Экспериментальные серии (n=5)	Число колоний <i>Escherichia coli</i> (M ± m)
Посев на мясопептонный агар (контроль роста)	356,0±31,11
Посев на мясопептонный агар + НИЛИ	651,4±83,06*
Посев на мясопептонный агар с добавлением нильского синего	36,83±7,54**
Посев на мясопептонный агар с добавлением нильского синего + НИЛИ	2,2±2,2** #

\* – изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

\*\* – изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,001$ )

# – изменения достоверны по отношению к группе с применением нильского синего ( $p < 0,01$ )

Результаты проведенных исследований *in vivo* подтвердили высокую противомикробную активность ФДТ с фотосенсибилизатором нильским синим. Уже к 3 суткам послеоперационного периода в мазках-отпечатках выявлялись лишь единичные микроорганизмы, в то время как в контрольной и опытной серии с применением НИЛИ обнаруживалась обильная, преимущественно грамстрицательная флора.

Следствием реализации эффекта летальной фотосенсибилизации явилось снижение инфицированности раневой поверхности поджелудочной железы в 12,5 по сравнению с контролем и в 5,2 раза в сравнении с серией, где применялось НИЛИ. Так в контрольной группе отмечали образование абсцессов у 21,2%, в первой опытной – 8,8%, во второй опытной – 1,7% выживших животных.

Сразнительная оценка выживаемости экспериментальных животных при резекции поджелудочной железы показала, что при использовании НИЛИ летальность уменьшилась в 2,7 раза по сравнению с контрольной группой, а в серии, где применяли ФДТ с фотосенсибилизатором нильским синим с последующей поддерживающей терапией НИЛИ, павших животных не было.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### **Основные научные результаты диссертации**

1. Резекция поджелудочной железы приводит к развитию в зоне операции острого травматического панкреатита, сопровождающегося деструктивными изменениями (некрозами, геморрагиями, воспалительной инфильтрацией), микроциркуляторными нарушениями (уменьшением плотности и количества функционирующих сосудов), снижением репаративной активности панкреатоцитов и клеток соединительной ткани, эндогенным инфицированием раневой поверхности культуры железы с образованием в 21,2% случаев абсцессов. В послеоперационном периоде в 13,3% отмечается прогрессирование травматического панкреатита с развитием панкреонекроза, что приводит к гибели экспериментальных животных [2-А, 7-А, 9-А].
2. Низкоинтенсивное лазерное излучение ( $\lambda = 0,67 \text{ мкм}$ ,  $P = 25,5 \text{ мВт/см}^2$ ) стимулирует заживление культуры поджелудочной железы: уменьшает распространенность некротических изменений и воспалительную инфильтрацию на 66% к 7-ым и на 74,3% к 14-ым суткам ( $p < 0,001$ ), ускоряет созревание грануляционной ткани за счет увеличения количества фибронектина на 30,6% к 14-ым суткам ( $p < 0,001$ ), улучшает микроциркуляцию путем повышения плотности сосудистого русла на 18,6% к 30-ым суткам оперативного вмешательства ( $p < 0,05$ ), что препятствует прогрессированию острого панкреатита и снижает число летальных исходов среди экспериментальных животных в 2,7 раза и инфекционных осложнений в 2,4 раза в сравнении с контролем [1-А, 5-А, 9-А].
3. На ультраструктурном уровне в зоне резекции поджелудочной железы под воздействием низкоинтенсивного лазерного излучения в ацинарных клетках и клетках соединительной ткани активизируется внутриклеточная регенерация путем увеличения количества ядерного материала, гранулярной эндоплазматической сети, свободных рибосом и митохондрий [2-А, 3-А, 8-А].
4. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения в послеоперационном периоде при резекции поджелудочной железы снижает концентрацию продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгат и оснований Шиффа) и активизирует компоненты антиоксидантной системы организма (токоферол и каталазу), что создает благоприятные условия для течения репаративных процессов в культуре органа [4-А, 10-А, 11-А].

5. Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором нильским синим обладает выраженным антимикробным действием в отношении *Esherichia coli*, подавляя ее рост на 99,4% ( $p < 0,001$ ), значительно снижает уровень бактериальной инвазии культуры поджелудочной железы, что позволяет уменьшить количество послеоперационных гнойных осложнений (абсцессов) при резекции этого органа в эксперименте в 12,5 раза в сравнении с контролем [5-А, 6-А].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

Полученные в эксперименте результаты позволяют рекомендовать использование НИЛИ и ФДТ в практике хирургических отделений для профилактики послеоперационного панкреатита, борьбы с микробным обсеменением поджелудочной железы и парапанкреатической клетчатки, приводящем к развитию инфекционных осложнений при операциях на этом органе.

## **СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Статьи в научных журналах**

1. Стенько, А.А. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения в лечении хирургической патологии / А.А. Стенько, И.В. Кумова, И.Г. Жук // Журнал ГрГМУ. – 2006. – №1. – С. 37–40.
2. Стенько, А.А. Морфологическое обоснование профилактики послеоперационного панкреатита низкоинтенсивным лазерным излучением в эксперименте / А.А. Стенько, Р.И. Кравчук, И.Г. Жук, В.М. Шейбак // Медицинский журнал. – 2006. – № 4. – С. 91–93.
3. Стенько, А.А. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на ультраструктуру поджелудочной железы при ее резекции / А.А. Стенько, Р.И. Кравчук, И.Г. Жук // Журнал ГрГМУ. – 2007. – № 1. – С. 99–102.
4. Стенько, А.А. Влияние низкочастотного лазерного излучения и фотодинамической терапии на систему антиперекисной защиты и микроциркуляцию при резекции поджелудочной железы / А.А. Стенько, И.Г. Жук, В.В. Зинчук, М.Ю. Брагов // Вестник ВГМУ. – 2007. Т. 6, № 2. – С. 85–90.

### **Статьи в сборниках материалов конференций**

5. Стенько, А.А. Экспериментальное обоснование применения низкоинтенсивного лазерного излучения и фотодинамической терапии в профилактике послеоперационного панкреатита / А.А. Стенько, И.Г. Жук, С.С. Ануфрик // Лазерная физика и оптические технологии: материалы VI Международной конференции, Гродно, 23–25 сент. 2006 г.: в 2 ч. / Гродн. гос. ун-т; редкол.: Н.С. Казак [и др.]. – Гродно, 2006. – Ч. 2. – С. 352–354.

### **Тезисы в сборниках материалов конференций и научно-практических изданиях**

6. Стенько, А.А. Экспериментальное обоснование низкоинтенсивного лазерного излучения и активируемого им фотосенсибилизатора в лечении послеоперационного панкреатита / А.А. Стенько, Е.В. Маркевич, И.В. Кумова // Тезисы докладов конф. студ. и молод. учен., посвящ. памяти профессора И.Я. Макшанова, Гродно, 12–13 апреля 2006 г. / Гродн. гос. мед. ун-т; редкол. О.И. Дубровщик [и др.]. – Гродно, 2006. – С. 268–269.

7. Стенько, А.А. Профилактика послеоперационного панкреатита при резекции поджелудочной железы / А.А. Стенько, И.Г. Жук, И.В. Кумова // Клінічна анатомія та оперативна хірургія.. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 60–61.

8. Стенько, А.А. Влияние низкочастотного лазерного излучения на ультраструктурные изменения в ацинусе поджелудочной железы при

послеоперационном панкреатите / А.А. Стенько, Р.И. Кравчук, И.Г. Жук // Актуальные проблемы морфологии: материалы Междунар. научно-практ. конф., посвящ. 85-летию Бел. гос. мед. ун-та, Минск, 2006 г. / Бел. гос. мед. ун-т, редкол.: П.Г. Пивченко [и др.]. – Минск, 2006. – С. 148–149.

9. Стенько, А.А. Способы профилактики микроциркуляторных нарушений при послеоперационном панкреатите / А.А. Стенько, И.Г. Жук // Актуальные проблемы морфологии: материалы Междунар. научно-практ. конф., посвящ. 85-летию Бел. гос. мед. ун-та, Минск, 2006 г. / Бел. гос. мед. ун-т, редкол.: П.Г. Пивченко [и др.]. – Минск, 2006. – С. 147–148.

10. Стенько, А.А. Особенности процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при послеоперационном панкреатите / А.А. Стенько, А.К. Санько, Е.М. Савошинский // Тезисы докладов конф. студ. и молод. учен., посвящ. памяти профессора Г.В. Кулаго, Гродно, 11-13 апреля 2007 г. / Гродн. гос. мед. ун-т; редкол. П.В. Гарелик [и др.]. – Гродно, 2007. – С. 465–466.

11. Стенько, А.А. Профилактика гнойно-септических осложнений послеоперационного панкреатита / А.А. Стенько, А.К. Санько, Е.В. Маркевич // Тезисы докладов конф. студ. и молод. учен., посвящ. памяти профессора Г.В. Кулаго, Гродно, 11-13 апреля 2007 г. / Гродн. гос. мед. ун-т; редкол. П.В. Гарелик [и др.]. – Гродно, 2007. – С. 463–464.

## РЭЗЮМЭ

Сцянько Аляксандр Аляксандравіч

Нізкайтэнсіўная лазерная і фотадынамічная тэрапія ў прафілактыцы ўскладненняў пры рэзекцыі падстраунікавай залозы (экспериментальнае даследванне)

**Ключавыя слова:** падстраунікавая залоза, рэзекцыя, нізкайтэнсіўная лазерная тэрапія, фотадынамічная тэрапія, нільскі сіні, пасляаперацыйны панкрэатыт, інфіцыйны ўскладненні.

**Аб'ект даследвання:** лабараторныя жывелы (180 пацукоў), чистая культура *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Мэта работы:** Экспериментальна аргументаваць прымянењне нізкайтэнсіўнага лазернага выпраменьвання і фотадынамічнай тэрапіі ў прафілактыцы пасляаперацыйных ускладненняў пры рэзекцыі падстраунікавай залозы.

**Метады даследвання:** макраскапічны, гісталагічны, электронна-мікраскапічны, біяхімічны, мікрабілагічны, статыстычны; морфаметрыя.

**Атрыманыя вынікі і их навіза:** Рэзекцыя падстраунікавай залозы прыводзіць да развіція пасляаперацыйнага панкрэатыту, суправаджаюча высокай магчымасцю інфіцыравання кульці органа, выражанымі парушэннямі мікрацыркуляцыі, зніжэннем біясінтэтычнай і рэпараційнай актыўнасці ацынарных клетак і клетак грануляцыйнай тканкі. Прымянењне нізкайтэнсіўнага лазернага выпраменьвання актыўізуе ўнутрыклетачную рэгенерацыю, ажыццяўляе карыгіруючае ўздзеянне на морфафункциональны стан мікрацыркуляцыйнага русла кульці падстраунікавай залозы, нармалізуе прааксідантна-антраксідантную раўнавагу, у значнай ступені памяншае марфалагічныя пражаленія вострага панкрэатыту, перашкаджае яго прагрэсу. Фотадынамічная тэрапія з фотасенсіблізаторам нільскім сінім мае высокую антымікробную актыўнасць і прадухіляе ўзікненне інфекцыйных ускладненняў пры рэзекцыі падстраунікавай залозы.

Атрыманыя новыя вынікі дазваляюць рэкамендаваць прымянењне нізкайтэнсіўнага лазернага выпраменьвання і фотадынамічнай тэрапіі ў клініцы для прафілактыкі пасляаперацыйнага панкрэатыту і інфіцыйных ускладненняў пры рэзекцыі падстраунікавай залозы.

**Вобласць прымянењня:** хірургія.

## **РЕЗЮМЕ**

**Стенько Александр Александрович**

**Низкоинтенсивная лазерная и фотодинамическая терапия в профилактике осложнений при резекции поджелудочной железы (экспериментальное исследование)**

**Ключевые слова:** поджелудочная железа, резекция, низкоинтенсивная лазерная терапия, фотодинамическая терапия, нильский синий, послеоперационный панкреатит, инфекционные осложнения.

**Объект исследования:** лабораторные животные (180 крыс), чистая культура *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Цель работы:** Экспериментально обосновать применение низкоинтенсивного лазерного излучения и фотодинамической терапии в профилактике послеоперационных осложнений при резекции поджелудочной железы.

**Методы исследования:** макроскопический, гистологический, электронно-микроскопический, биохимический, микробиологический, статистический; морфометрия.

**Полученные результаты и их новизна:** Резекция поджелудочной железы приводит к развитию острого панкреатита, сопровождается высокой вероятностью инфицирования культуры органа, выраженными нарушениями микроциркуляции, снижением биосинтетической и репартивной активности ацинарных клеток и клеток грануляционной ткани. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения активизирует внутриклеточную регенерацию, оказывает корrigирующее действие на морфофункциональные состояния микроциркуляторного русла культуры поджелудочной железы, устраняет дисбаланс прооксидантно-антиоксидантной системы, в значительной степени уменьшает морфологические проявления острого панкреатита, препятствует его прогрессированию. Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором нильским синим обладает выраженным антимикробным действием и предотвращает возникновение инфекционных осложнений при резекции поджелудочной железы.

Полученные новые данные позволяют рекомендовать применение низкоинтенсивного лазерного излучения и фотодинамической терапии в клинике для профилактики послеоперационного панкреатита и инфекционных осложнений при резекции поджелудочной железы.

**Область применения:** хирургия.

## **SUMMARY**

**Stenko Alexander Alexandrovich**

### **Low Level Laser and Photodynamic Therapy in prophylaxis of complications at pancreas resection (an experimental research)**

**Key words:** pancreas, resection, Low Level Laser Therapy, Photodynamic Therapy, Nile blue, postoperative pancreatitis, infectious complications.

**Object of investigation:** laboratory animals (180 rats), pure culture of Escherichia coli ATCC 25922.

**Aim of research:** To give an experimental proves of application of Low Level Laser Radiation and Photodynamic Therapy in prophylaxis of postoperative complications at pancreas resection.

**Methods of investigation:** macroscopical, histological, electron-microscopical, biochemical, microbiological, statistical examinations; morphometry.

**Achieved results and their novelty:** Pancreas resection leads to postoperative pancreatitis, probable contamination of stump of gland, evident microcirculatory disturbances and reduction of biosynthetic and reparative activity of acinar cells and cells of granulation tissue. Application of Low Level Laser Radiation activates intracellular regeneration and has corrective influence on morphofunctional condition of microcirculatory network in the stump, normalizes prooxidant-antioxidative balance, extensively decreases morphological manifestations of acute pancreatitis and prevents its progress. Photodynamic Therapy with photosensitizer Nile blue possesses high antimicrobial activity and prevents development of infectious complications at pancreas resection.

The achieved results give an opportunity to recommend application of Low Level Laser Radiation and Photodynamic Therapy in clinics for prophylaxis of postoperative pancreatitis and infectious complications after pancreatic resection.

**Field of application:** surgery.