

На правах рукописи

КУЗНЕЦОВА

Галина Владимировна

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИНФРАКРАСНОГО ЛАЗЕРНОГО  
ИЗЛУЧЕНИЯ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ЛИКВОРНЫХ СВИЩЕЙ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

14.01.17. - хирургия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2010

Работа выполнена в Областном государственном учреждении здравоохранения  
Центре организации специализированной медицинской помощи  
«Челябинский государственный институт лазерной хирургии»

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук

**Исмагилова Светлана Тагировна**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор

**Лисиенко Валентина Михайловна**

доктор медицинских наук, профессор

**Бордуновский Виктор Николаевич**

**Ведущая организация:**

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию "

Защита состоится «28» октября 2010 г. в «\_\_\_» часов на заседании диссертационного совета по защите докторских диссертаций Д 208.102.01, созданного при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Росздрава, по адресу: 620028 г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, а с авторефератом на сайте академии [www.usma.ru](http://www.usma.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2010 года.

Ученый секретарь совета

по защите докторских диссертаций

доктор медицинских наук, профессор



Руднов В.А.

## Общая характеристика работы

**Актуальность проблемы.** Устранение патологических свищевых ходов различной локализации представляет собой общехирургическую проблему. Среди свищевых ходов большое клиническое значение имеют стойкие ликворные свищи, которые могут привести к серьезнейшим патологическим состояниям, сопровождаются менингитами в 10-15% случаев, пневмоцефалией и развитием внутримозговых абсцессов (Охлопков В.А., 1996; Абдулкеримов Х.К., 2003; Капитанов Д. Н., 2003). Ликворея возникает при черепно-мозговых травмах, а также при некоторых заболеваниях врожденного, дистрофического, опухолевого и воспалительного происхождения.

В настоящее время разрабатывается много способов хирургического лечения ликворных свищей, в том числе назальной ликвореи, с использованием тампонады носа, эндоскопической пластики дефекта ауто- и аллотрансплантатами, герметизации искусственными материалами. Однако и такие высокотехнологичные операции в 7-15 % случаев оказываются недостаточно эффективными, рецидивы назальной ликвореи требуют дополнительного хирургического вмешательства (Капитанов Д. Н., 2007; Dodson E.E., 1994; Briggs R.J., 2004; Мeco C., 2007).

Недостаточная эффективность имеющихся методов лечения свищевых ходов, в том числе назальных ликворных свищей, требует проведения дополнительных исследовательских работ в данной области. Для этого необходимо создание экспериментальной модели назального ликворного свища. Существующие в настоящее время модели ликворных свищей не предназначены для изучения хронической назальной ликвореи. Они либо носят острый характер, травматичны для биологического объекта, сложны и трудоемки в выполнении (Nishihira S., 1988; Rock J.P., 1996; Siedentop K.H., 1999), либо предназначены для изучения ликвородинамики и состояний, связанных с хронической ликворопотерей и анатомически не соответствуют типичному месту расположению дефекта при этом заболевании (Ткач В.В., 1992).

Известно, что внедрение лазерных технологий в хирургию позволяет повысить эффективность оперативных вмешательств и снизить интраоперационную кровоточивость тканей (Плужников М.С., 2000). Хорошие коагулирующие свойства лазерного излучения, его бактерицидность, активация

пролиферации тканей после лазерного воздействия являются предпосылками для применения лазера при пластике ликворных свищей. Возможность доставки лазерного излучения посредством гибких световодов позволяет использовать его при эндоскопических вмешательствах. Однако в настоящее время данные об использовании лазеров при пластике ликворных свищей отсутствуют.

### **Цель исследования**

Разработка в эксперименте нового способа закрытия ликворных свищей с использованием лазерного излучения для улучшения результатов их лечения.

### **Задачи исследования:**

1. Разработать хроническую модель ликворного свища в эксперименте.
2. Подобрать параметры лазерного излучения для воздействия на стенки свищевого хода.
3. Изучить влияние облучения лазером в выбранных параметрах на процессы заживления ликворного свища.
4. На основании результатов экспериментальных исследований обосновать рекомендации о возможности использования лазерного излучения при ринохирургическом лечении назальной ликвореи.

### **Научная новизна работы**

Впервые разработана методика моделирования хронического назального ликворного свища в эксперименте, характеризующаяся малой травматичностью для биологического объекта, простотой в выполнении, высокой воспроизводимостью. Состоятельность модели подтверждена лабораторными и инструментальными методами диагностики.

Впервые изучено морфологическое строение ликворного свища на разных сроках его формирования в эксперименте.

Впервые разработан способ лазерного воздействия на стенки свищевого хода с целью сокращения сроков его закрытия, определены оптимальные параметры лазерного излучения.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные экспериментальные данные имеют существенное значение для хирургии и могут служить основанием для разработки метода устранения назальной ликвореи с применением инфракрасного лазерного излучения, позволяющего улучшить непосредственные результаты эндоназальной пластики у больных со стойкой назальной ликвореей посттравматического и спонтанного характера.

Полученные данные могут служить основанием для разработки методов лазерной хирургии свищей другой локализации.

На основе результатов исследования разработан новый метод моделирования стойкой назальной ликвореи в эксперименте (Пат. 2395849 РФ, от 27.07.2010, Бюл. №21). Разработан для внедрения в клиническую практику новый метод устранения назальной ликвореи с применением инфракрасного лазерного излучения (патент РФ № 2346667 от 20.02.2009, Бюл. №5).

Результаты работы используются в научно-исследовательской работе ОГУЗ ЦОСМП «Челябинский государственный институт лазерной хирургии» для разработки новых технологий лазерной хирургии, внедрены в учебный процесс кафедры хирургии с курсом нейрохирургии и оториноларингологии ГОУ ДПО «Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования».

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Трансназальная перфорация ситовидной пластинки решетчатой кости крыс с последующей установкой полимерного катетера диаметром 0,6 мм на срок 30 суток обеспечивает формирование хронического ликворного свища, что подтверждается данными клинических наблюдений, рентгенографии, компьютерной томографии и КТ-цистернографии, морфологических и морфометрических исследований.
2. Обработка свищевого хода излучением лазера с длиной волны 970 нм, мощностью 0,7 Вт в течение 5 с. в непрерывном режиме

контактным способом способствует ускорению закрытия ликворного свища

3. Воздействие лазерного излучения ускоряет процессы заживления ликворного свища, что может быть использовано для разработки методов трансназальной эндоскопической пластики ликворных свищей у пациентов с данной патологией.

## **Апробация работы**

Основные положения работы были доложены и обсуждены на Научной сессии, посвященной 10-летию Южно-Уральского научного центра РАМН «Медицинская академическая наука – здоровью населения Урала» (Челябинск, 2008 г), научно-практической конференции «Популяционное здоровье. Наш вклад в его укрепление» (Челябинск, 2009), III конференции Уральского федерального округа «Актуальные вопросы патологии верхних дыхательных путей и уха» (Челябинск, 2009), Научно-практической конференции «Лазерная медицина 21 века» (Москва, 2009), V съезде нейрохирургов России (Москва, 2009), IV Съезде физиологов Урала с международным участием (Екатеринбург, 2009), IX Всероссийской конференции «Поленовские чтения» (Санкт-Петербург, 2010)

## **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 2 публикации - в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Получено 2 патента РФ на изобретение.

## **Структура диссертации**

Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей материалы и методы исследований, двух глав результатов собственных исследований, главы обсуждения полученных результатов, выводов, списка литературы. Указатель использованной литературы включает 81 отечественных и 151 зарубежных источников. Работа содержит 13 таблиц, 29 рисунков.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на 152 беспородных половозрелых крысах, содержащихся в условиях вивария. Распределение животных по сериям экспериментальных воздействий приведено в таблице 1. Все исследования осуществлялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», регламентированных в приложении к приказу МЗ СССР №755 от 12.09.77.

Таблица 1.

<b>Дизайн эксперимента</b>				
Отработка метода создания модели 11 животных (5 – изуч. анатомии; 6- установ. катетера)	Создание модели ликворного свища (141 животных)			
	Изучение динамики формирования свища на разных сроках 43 животных	Лечение созданного ликворного свища через 30 суток формирования		
		Подбор параметров лазерного воздействия 8 животных	Основная группа (облучение лазером) 45 животных	Группа сравнения (контроль) 45 животных
Методы исследования: наблюдение (поведение, пищевой рефлекс, неврологические симптомы, характер истечения ликвора) Рентгенография черепа в 2-х проекциях, Компьютерная томография КТ-цистернография с омнипаком-180 Морфологические исследования (макро-, микроскопия, морфометрия)				

Вмешательства проводились под общей анестезией путем внутримышечного введения препарата «Золетил» (20 мг/кг веса). После операции проводилась терапия цефазидимом в дозе 70мг/сут внутримышечно в течение 21 дня. Ежедневно оценивали общее состояние, поведение, наличие ликвореи и неврологическую симптоматику животных: наличие общемозговой симптоматики (заторможенность, сонливость, отказ от пищи); очаговой неврологической симптоматики (моно- и гемипарезы); появление эпилептических приступов, вестибулярных нарушений.

Для подтверждения правильности установки катетера и состоятельности модели на разных сроках использовали метод прижизненного введения через катетер контрастного вещества – толуидинового синего; рентгенографию черепа в 2-х проекциях (при введении проводника у 10 животных на установке «Медикс-Р-Амико», 52кВ, время 0,02 с.), КТ и КТ-цистернографию с

омнипаком-180 на сроках 21 и 30 суток (компьютерный сканер-томограф СТ MAX - 640 GE, шаг 2 мм).

Через 30 суток после установки катетера завершалось создание модели и производилось исследование процессов заживления ликворного свища после лазерного воздействия и без него. Подбор параметров лазерного воздействия производился на 8 животных со сформированным ликворным свищем. В качестве источника излучения использован лазерный скальпель «ИРЭ-Полус» с длиной волны 970 нм, диаметр световода 0,4 мм. Выходную мощность контролировали измерителем мощности Gentec TPM-300-CE (Канада). Животным контрольной группы лазерное воздействие не производилось. Вывод животных из эксперимента производился ингаляционной передозировкой хлороформа в сроки, представленные в таблице 2.

Таблица 2.

Количество животных и сроки выведения их из эксперимента

Сроки выведения Группы животных	Отраб метод	Сразу после возд.	1 сут	3 сут	7 сут	14 сут	21 сут	30 сут	длит. Сроки
Моделирование ликворного свища	11	-	6	6	6	6	9*	7**	1,5 мес – 1 2 мес-1 2,5 мес – 1
Лазерное воздействие (после 30 суток моделирования)		8	7	7	7	7	6	6	2 мес – 3 2,5 мес-1 4 мес – 1
Контрольная группа (после 30 суток моделирования)			7	7	7	7	7	6	2 мес – 1 2,5 мес-2 3 мес – 1
Всего	152								

\* 4 животных погибли от обширных абсцессов головного мозга в период от 14 до 21 суток, 5 были выведены на сроке 21 суток

\*\* 2 животных погибли от обширных абсцессов головного мозга в период от 21 до 30 суток, 5 были выведены на сроке 30 суток

Для проведения морфологических и морфометрических исследований фрагменты черепа, ограниченные спереди верхними отделами носовых ходов, сзади передней черепной ямкой, сверху крышей черепа, снизу твердым небом, латерально височными костями фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина в течение 1 мес., декальцинировали Трилоном-Б (pH=7,4) при T=37°C, выдерживали 1 сут. в 5% р-ре NaSO<sub>4</sub>, в течение 24 часов промывали в проточной воде, обезжовивали в спиртах восходящей концентрации. Ткани



заливали в парафин, изготавливали серийные гистотопографические срезы толщиной 5-7 мкм через каждые 50 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, реактивом Шиффа.

Микроскопические исследования проводили на микроскопе «Leika DMRXA» (Германия). Морфометрические исследования проводились с помощью программы анализа изображений «ImageScore M» (Россия). Оценивалось общее количество клеточных элементов (эритроцитов, нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, фибробластов); соотношение клеточных элементов в стенке свищевого хода; площадь, занятая коллагеновыми волокнами; состояние микроциркуляторного русла.

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета программ «Statistica 6.0», (StatSoft Inc, США) методами непараметрической статистики. Предварительный анализ формы распределения данных по гистограммам и с помощью критерия Шапиро-Уилкса показал, что распределение большинства признаков отличается от нормального. Количественные данные представлены в формате Me(UQ-LQ) - медиана, верхний и нижний квартили. Сравнение данных для пар несвязанных групп производилось путем вычисления U-критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони (Гланц С., 1998; Реброва О.Ю., 2002).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

**Моделирование назальной ликвореи у животных.** Предварительное топографическое изучение черепа крысы показало, что внешним ориентиром положения ситовидной пластинки решетчатой кости является горизонтальная линия, проведенная через центры глазных яблок животного. Расстояние между входом в нос и этой линией с учетом толщины мягких тканей носа и решетчатой кости отмечали на полимерном катетере диаметром 0,6 мм. В районе данной отметки катетер прошивали проленом 5/00. Катетер насаживали на проводник с заостренным концом (спинномозговую иглу). Далее проводник вводили в носовую полость по верхнему носовому ходу и перфорировали им решетчатую пластину до ощущения «провала». По проводнику продвигали катетер, проводник удаляли, катетер на уровне отметки подшивали к коже

ноздри нитью, которой он был ранее прошит. Сразу после установки катетера в его просвете появлялась жидкость – ликвор с примесью крови. Наличие ликвора определялось с помощью “Halo”-теста – на фильтровальной бумаге, приложенной к капилляру, вокруг центрального кровяного пятна образовывался характерный светло-желтый ободок.

Правильность установки катетера была подтверждена рентгенографией черепа в прямой и боковой проекциях (Рис 1.)

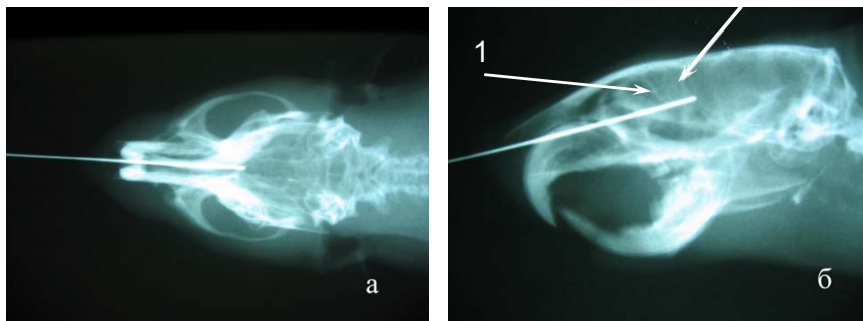


Рис. 1. Рентгенография черепа крысы в прямой (а) и боковой (б) проекциях. Стрелками указаны перпендикулярная пластинка (1) и ситовидная пластинка решетчатой кости (2).

На рентгенограмме головы крысы в прямой проекции кончик проводника проецировался на альвеолярную дугу нижней челюсти. Острый конец проводника выходил в полость черепа на 0,5 мм (Рис. 1 а). В боковой проекции кончик проводника располагался за ситовидной пластинкой, проникая перед этим через всю решетчатую кость (Рис. 1 б).

Через 1,3,7,14 суток на одном случайно выбранном животном из группы соответствующего срока эксперимента перед выведением животного из опыта производился контроль правильности установки катетера и его проходимости путем введения окрашивающего вещества толуидинового синего, 0,5 мл 0,1% раствора. Через 2 часа осуществлялся вывод животного из эксперимента. Во всех случаях толуидиновый синий был обнаружен в полости черепа, что доказывало состоятельность катетера.

При компьютерной томографии мозга и придаточных пазух крысы во фронтальной проекции видны скопления воздуха на основании мозга

(пневмоцефалия) (Рис.2 а). На рисунке 2 б виден дефект в области решетчатой кости основания черепа.

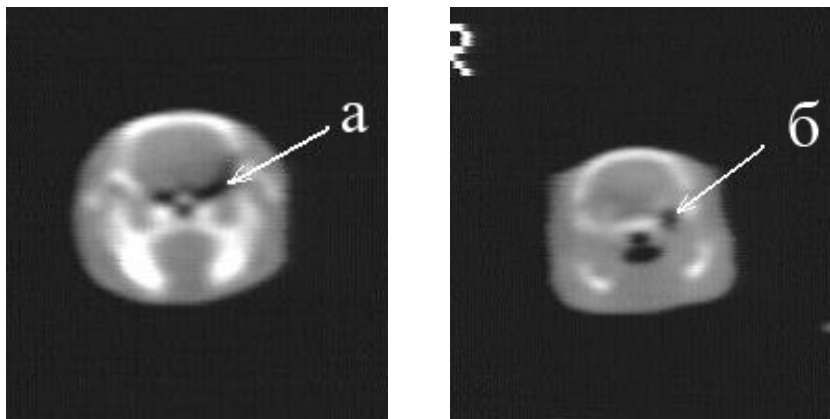


Рис. 2. Компьютерная томография головного мозга крысы. Пневмоцефалия (а), дефект решетчатой кости (б) через 30 суток после операции.

При введении через катетер омнипака-180 были контрастированы желудочки и базальные цистерны мозга. Наличие контраста в них свидетельствовало о состоятельности свища (рис 3.)



Рис. 3. КТ-цистернография с омнипаком. Накопление контраста: а, б – в желудочках мозга; в – в базальных цистернах мозга крыс спустя 30 суток после операции.

## **Результаты моделирования ликворного свища**

На этапе отработки методики 4 животных погибло при установке катетера. У них наблюдались похолодание и синюшность кожи конечностей, нарушение ритмичности дыхания, брадикардия, остановка сердечной деятельности, что явилось проявлением ринокардиального и тригеминокардиального рефлекса (Schaller BJ, 2005,2008; Seker A, 2009). Это вызвало необходимость при установке катетера дополнительно использовать местную анестезию носового хода в виде крема ЭМЛА 5% (лидокаин, прилокаин, пр-ва Astra, Швеция) и спрей 10% лидокаин (Фармстандарт, Россия).

Два животных погибли в первые-вторые сутки после операции в результате массивных кровоизлияний в область передней черепной ямки. У них наблюдалось нарастание общемозговой симптоматики, в виде вялости, отказа от пищи, судорожных припадков, остановки дыхания и сердечной деятельности. При вскрытии этих животных выявили, что эндоназальный катетер был установлен далеко в полость черепа, травмировал оболочки лобных долей мозга в области передней черепной ямки.

У 141 животного ранний послеоперационный период протекал без особенностей. В течение первых 4-5 суток наблюдались вялость, апатия, снижение аппетита. В дальнейшем наблюдалось улучшение самочувствия, нормализация аппетита, восстановление активности. У всех животных с установленным катетером за все время наблюдения регистрировалось истечение ликвора по катетеру, что подтверждалось тестом с фильтровальной бумагой.

У 6 животных через 2 недели после вмешательства клинически отмечалось появление общемозговой симптоматики в виде заторможенности, сонливости, отказа от пищи, а также очаговой симптоматики в виде атаксии, гемипарезов, развернутых эпилептических приступов и вестибулярных нарушений, что завершилось гибелью животных в срок от 18 до 23 суток. При вскрытии этих животных были обнаружены абсцессы мозга большого размера в области передней черепной ямки.

При выведении животных в соответствующие схеме опыта сроки на вскрытии также были обнаружены абсцессы разных размеров в лобной доле мозга на стороне создания свищевого хода (группа формирования модели на сроках более 3 недель - 6 животных, группа лазерного воздействия - 14

животных, группа сравнения – 16 животных). Эти абсцессы формировались спустя 3 недели после создания модели, инкапсулировались под воздействием антибактериальной терапии и не проявлялись клинически. Частота встречаемости абсцессов после лазерного лечения и в контрольной группе не различались (таблица 3).

Таблица 3.

Распределение животных с абсцессами среди всех животных, выведенных на разных сроках эксперимента (абсцесс/ все )

Группы животных \ Сроки выведения	Сроки выведения						
	1 сут	3 сут	7 сут	14 сут	21 сут	30 сут	длит. Сроки
Моделирование ликворного свища	0/6	0/6	0/6	1/6	2/5	2/5	1/3
Лазерное воздействие (после 30 суток моделирования)	2/7	3/7	1/7	2/7	2/6	2/6	2/5
Контрольная группа (после 30 суток моделирования)	2/7	2/7	3/7	2/7	3/7	2/6	2/4
Всего	36/127						

Количество животных с этими осложнениями в каждой группе было небольшим и недостаточным для статистически достоверной сравнительной оценки контрольной и опытной групп. Поскольку задачей нашего исследования было изучение неосложненных ликворных свищей после обработки их высокоинтенсивным лазерным излучением и без лазерного воздействия, животные с осложнениями в виде абсцессов были исключены из общих морфологических и морфометрических исследований.

#### **Морфологические изменения в стенке формирующегося свищевого хода при создании модели**

После введения катетера в стенке свища преобладали морфологические изменения, свидетельствующие об острой травме в виде кровоизлияний, разрушений костных структур. В дальнейшем нарастали процессы регенерации за пределами стенок катетера, и к 30 сутками стенки свища были представлены соединительно-ткаными структурами.

Морфометрический анализ клеточного состава в стенке формирующегося свища показал (рис. 4), что по мере увеличения срока после его создания с 1-х по 3-и сутки количество эритроцитов на 1 мм<sup>2</sup> площади повышалось с 1178(942;1352) до 1941(1562; 2345), а затем в течение всего дальнейшего срока наблюдения статистически значимо снижалось с 1941(1562;2345) до 62(35;204), что свидетельствовало о прекращении кровотечения уже в ранние сроки.

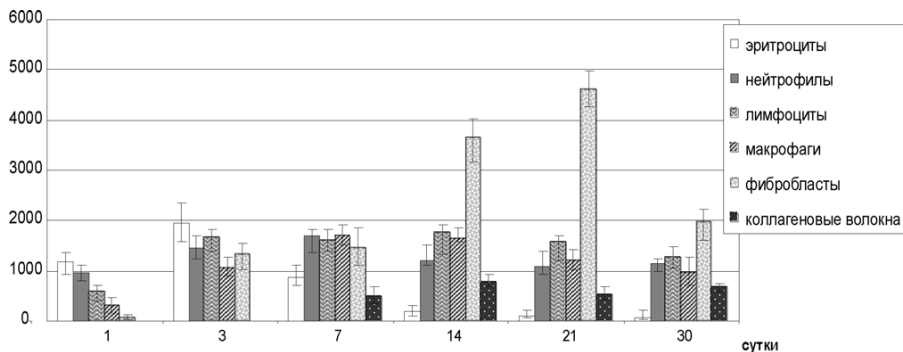


Рис. 4. Динамика изменения количества клеточных элементов в стенке свищевого хода по периферии катетера, N/мм<sup>2</sup>. Коллагеновые волокна – тыс мкм<sup>2</sup>/мм<sup>2</sup>.

Количество нейтрофилов статистически значимо нарастало к 7 суткам исследования с 949(798;1115) до 1691(1362;1813), а затем снижалось до 1149(980;1232) клеток на 1 мм<sup>2</sup>. Количество лимфоцитов через 3 суток после создания свища статистически значимо увеличивалось с 579(398;703) до 1607(1381;1839) и далее в течение всего срока наблюдения оставалось на этом уровне. Количество макрофагов значимо нарастало в течение 2 недель с 303(152;478) до 1637(1582;1851) клеток на 1 мм<sup>2</sup>, а начиная с третьей недели значимо снижалось и через 30 суток достигало значения 952(712;1259).

Особый интерес представляла динамика содержания фибробластов. В первые сутки количество их в 1 мм<sup>2</sup> составляло 62(34;123), но в дальнейшем эта величина нарастала до 4608(4283;4825) к 21 суткам, а к 30-м суткам снижалась в 2 раза по сравнению с предыдущим сроком, но значительно превышало исходное количество. Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами, нарастала с 490(325;676) до 667(599;744) тыс мкм<sup>2</sup>/мм<sup>2</sup>.

Исчезновение эритроцитов из стенки свищевого хода, снижение в инфильтрате количества клеточных элементов и нарастание количества фибробластов и коллагеновых волокон свидетельствовало о затухании воспаления и формировании хронического свищевого хода, стенки которого были представлены преимущественно элементами соединительной ткани. Эпителиальной выстилки свищевого хода не было выявлено. Таким образом, нами был сформирован хронический гранулирующий ликворный свищ.

**Результаты лечения назальной ликвореи с применением лазерного излучения.** На 8 животных со сформированным ликворным свищом был произведен подбор параметров лазерного облучения. Для обеспечения точного воздействия был использован прием «зачерненного световода» (Игнатьева Е.Н., 2007; H Scherer, 2001). Воздействие мощностями 1,5 Вт и 0,7 Вт в течение 10 с привело к острой гибели животных. На вскрытии обнаружен обширный коагуляционный некроз, захватывающий все слои стенки свища или слизистой расположенной рядом этмоидальной ячейки. Воздействие мощностью 0,5 Вт в течение 5 с не обеспечивало достаточной коагуляции. Были выбраны параметры: мощность 0,7 Вт, время воздействия 5 с, что обеспечивало поверхностную коагуляцию области свищевого хода без повреждения нижележащих тканей и хорошую переносимость режимов животными.

На тридцатые сутки после моделирования производилось извлечение катетера и лазерное воздействие на стенки сформировавшегося свищевого хода. После извлечения катетера проводился Halo-тест, двойное пятно доказывало присутствие ликвора в отделяемом из носа. Назальная ликворея прекращалась через  $1,6 \pm 0,8$  суток после обработки лазером свищевого хода. Далее Halo-тест был отрицательным.

В контрольной группе производилось только извлечение катетера. Результаты Halo-теста были положительны в течение  $4,9 \pm 1,1$  суток после извлечения катетера. Далее ликворея самопроизвольно прекращалась ( $p < 0,05$  по критерию Манна-Уитни).

**Морфологические изменения в стенке моделированного свищевого хода после применения лазерного излучения и без него.** После извлечения катетера на гистотопографических срезах в области свища был выявлен канал диаметром от 400 до 800 мкм у разных животных, заполненный эритроцитами. Уже с 1 суток в опытной группе их количество было ниже, чем в группе контрольных животных. Эта тенденция сохранялась на всех сроках исследования (Рис. 5).

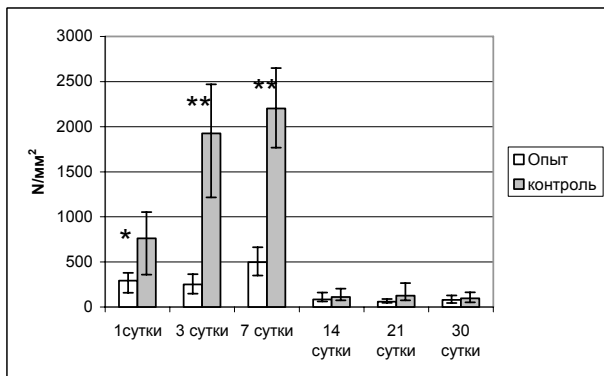


Рис. 5. Количество эритроцитов в стенке свищевого хода после облучения лазером и в контрольной группе

\*  $p=0,05$   
\*\*  $p=0,002$

Содержание нейтрофилов в стенке свища увеличилось как в опытной, так и в контрольной группах. Однако на сроке 1 неделя после облучения лазером количество палочкоядерных лейкоцитов было достоверно ниже, чем в контрольной, а в последующем этот показатель снижался в обеих группах в равной степени (рис. 6).

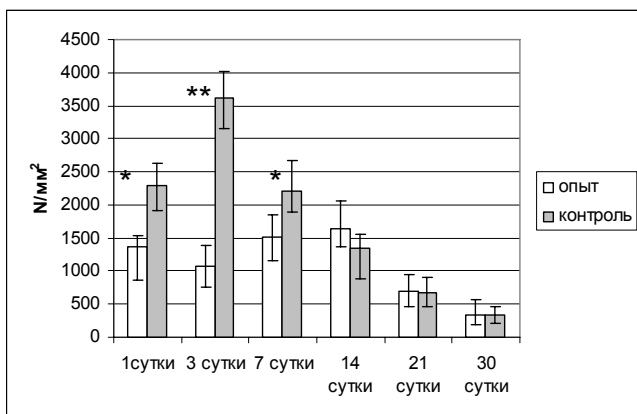


Рис. 6. Количество нейтрофилов в стенке свищевого хода по его периферии после облучения лазером и в контрольной группе

\*  $p=0,009$   
\*\*  $p=0,002$



Количество макрофагов во все сроки исследования в опытной группе был в 2-3 раза ниже, чем в контрольной (рис. 7); различие между опытной и контрольной группой было статистически значимым.

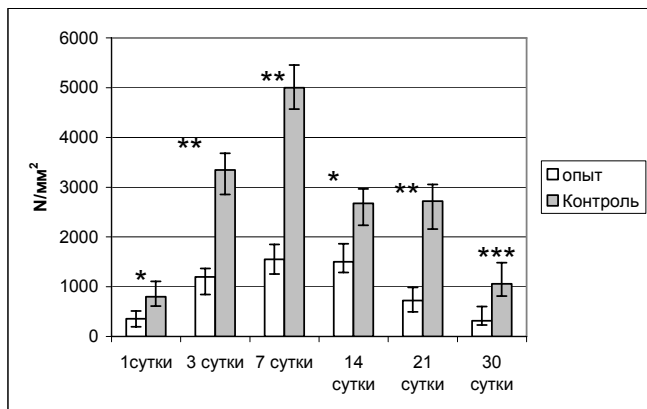


Рис. 7. Количество макрофагов стенке свищевого хода после облучения лазером и в контрольной группе  
\* $p=0,006$   
\*\* $p=0,002$   
\*\*\* $p=0,004$

Количество лимфоцитов на всех сроках исследования опытной группе было меньше, чем в контрольной, особенно значимо на 3и и 7-е сутки (рис 8).

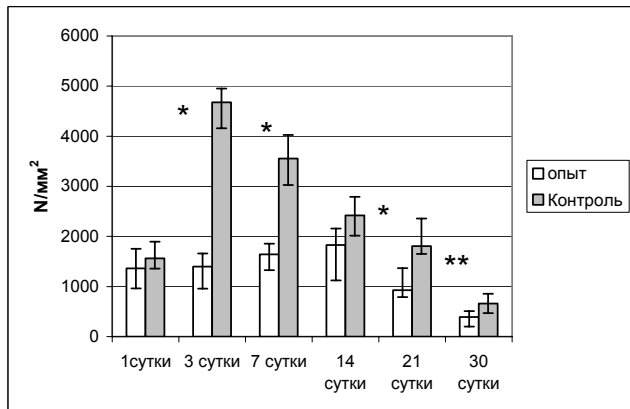


Рис. 8. Количество лимфоцитов в стенке свищевого хода после облучения лазером и в контрольной группе  
\* $p=0,003$   
\*\* $p=0,03$

Количество фибробластов на площади  $1\text{мм}^2$  в стенке свищевого хода у животных, подвергнутых лазерному воздействию, в течение 14 суток нарастало, а затем снижалось (рис. 9). К 7-м суткам количество фибробластов в опытной группе превышало значение в контрольной группе более чем в 2 раза. В контрольной группе процесс нарастания этого показателя был более

растянут, наибольшее количество фибробластов наблюдалось на сроке 21 сутки (в опытной группе 3,3 раза меньше по сравнению с контролем).

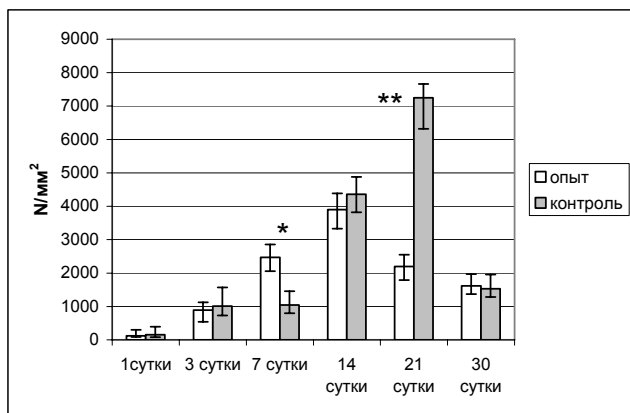


Рис. 9. Количество фибробластов в стенке свищевого хода после облучения лазером и в контрольной группе

\* $p=0,003$

\*\* $p=0,002$

Площадь, занятая коллагеновыми волокнами в  $1 \text{ мм}^2$  гистологического среза стенки свищевого хода, в опытной группе на все сроки исследования превышала контрольные значения, на 7, 14, 21 сутки превышение статистически значимым превышение было только на сроке 21 сутки (рис 10).

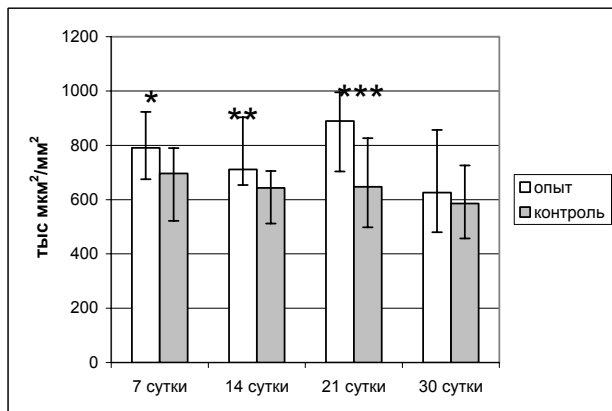


Рис. 10.

Содержание коллагеновых волокон в стенке свища в  $1 \text{ мм}^2$  гистологического среза

\*  $p=0,048$

\*\*  $p=0,04$

\*\*\*  $p=0,02$

Площадь, занимаемая сосудами микроциркуляторного русла в препаратах опытной группы, статистически значимо превышала таковую в контрольной в течение 21 суток после лазерного воздействия, в дальнейшем превышение имело характер тенденции (рис 11).

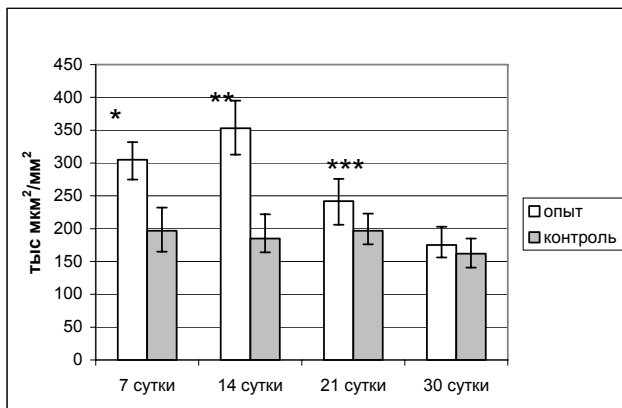


Рис. 11.  
Показатели  
состояния  
микроциркулятор-  
ного русла в  
грануляционной  
ткани свищевого  
хода (мкм<sup>2</sup>)  
\*p=0,004  
\*\*p=0,002  
\*\*\*p=0,03

Таким образом, результаты морфометрических исследований тканевых реакций в стенке свищевого хода свидетельствовали о меньшей степени кровоточивости, более раннем снижении количества нейтрофилов в ране, меньшей инфильтрации ее клеточными элементами, более интенсивном нарастании количества фибробластов и количества коллагеновых волокон в опытной группе уже с 7-х суток. К 21 суткам количество фибробластов снижается, а площадь коллагеновых волокон в опытной группе достоверно превышает таковую в контрольной. Снижение количества фибробластов в опытной группе при увеличении площади, занимаемой коллагеновыми волокнами, наблюдается на 21 сутки эксперимента, в то время как в контроле эти показатели имеют такое направление лишь через 1 месяц. Эти факты позволяют судить о более раннем формировании рубца после лазерного воздействия и значительном улучшении микроциркуляции в формирующейся грануляционной ткани по сравнению с контролем.

Созданная нами хроническая модель позволила:

- 1) изучить в динамике процесс формирования назального ликворного свища;
- 2) исследовать морфологическое строение стенок свищевого хода в процессе его создания;
- 3) разработать методику лазерного воздействия на область свищевого хода в целях его закрытия;
- 4) изучить динамику заживления ликворного свища после лазерного воздействия и без него.

Одним из осложнений формирования ликворного свища в нашем эксперименте было большое количество абсцессов головного мозга. Это объяснялось тем, что свищи в данной области являются наиболее коротким сообщением между полостью носа и полостью черепа, и в этом случае особенно велика вероятность инфицирования полости черепа (Добровольский Г.Ф., 1995). Это еще раз подчеркивает актуальность поиска новых методов лечения стойкой назальной ликвореи, которая в значительном проценте случаев сопровождается менингитами и абсцессами головного мозга (Fiad T.M. 1991; Bernal-Sprekelsen M. 2005; Daudia A. 2007). Адекватное закрытие ликворных свищей способствует прекращению эпизодов рецидивирующего менингита (Bernal-Sprekelsen M. 2005).

Ни в одном случае после формирования хронического ликворного свища нами не была выявленная эпителиальная выстилка свищевого хода, то есть сформированный ликворный свищ является гранулирующим. Лечение гранулирующих свищей не требует тщательного иссечения свищевого хода, достаточно санации свищевого хода и прекращения тока жидкости по нему (Ванцян, Э. Н., 1990).

На основании проведенных исследований был осуществлен подбор параметров лазерного излучения, обеспечивающих дозированную коагуляцию области свищевого хода, способствующих санации очага хронического воспаления и заживлению тканей. Осложнений, связанных с лазерным воздействием, не отмечено. Это свидетельствовало о безопасности выбранной методики. В тоже время прекращение назальной ликвореи в опытной группе в первые-вторые сутки после обработки лазером свищевого хода свидетельствовало об эффективности методики.

Морфологические и морфометрические исследования заживления свищевого хода после воздействия лазерного излучения и без него показали, что под действием лазерного излучения улучшается васкуляризация области воздействия, сокращается экссудативная фаза воспаления и быстрее наступает пролиферативная фаза.

Таким образом, и клинические, и морфологические результаты эксперимента свидетельствует о возможности применения излучения диодного лазера для закрытия хронических ликворных свищей.

## **Выводы**

1. Разработанный в эксперименте метод трансназальной перфорации ситовидной пластинки решетчатой кости у крыс с установкой полимерного катетера позволяет создать модель хронической назальной ликвореи у крыс. Затухание воспаления и преобладание фазы пролиферации в стенках дефекта к 30-м суткам эксперимента свидетельствует о сформированности хронического ликворного свища.
2. Оптимальными параметрами воздействия лазерного излучения на стенку ликворного свища у крыс являются: длина волны 970 нм, мощность 0,7 Вт в течение 5 секунд в непрерывном режиме.
3. Сокращение времени ликвореи с  $4,9 \pm 1,1$  суток в контрольной группе до  $1,6 \pm 0,8$  суток в опыте ( $p < 0,05$ ) и результаты морфологических и морфометрических исследований свидетельствуют о сокращении времени заживления ликворного свища после обработки его лазером в выбранных параметрах.
4. Применение излучения лазера с длиной волны 970 нм с целью стимуляции заживления ликворного свища является малотравматичным и эффективным и может быть использовано для разработки методов лечения назальной ликвореи у пациентов.

## **Практические рекомендации**

1. Для изучения хронической назальной ликвореи может быть использована модель на животных (крысах), созданная путем трансназальной перфорации ситовидной пластинки решетчатой кости и установки на срок 30 суток инертного полимерного катетера диаметром 0,6 мм.
2. Правильность установки катетера в субарахноидальное пространство, может быть подтверждена методами лабораторной диагностики (Halo – тест, введение контрастного вещества) и инструментальной диагностики (рентгенография черепа в 2-х проекциях, компьютерная томография и КТ-цистернография головного мозга).
3. Для улучшения результатов эндоскопической эндоназальной пластики ликворных свищей целесообразно использовать обработку стенок ликворного свища излучением лазера с длиной волны 970 нм в непрерывном режиме.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Кузнецова Г.В. Эндоназальный способ закрытия стойких ликворных свищей с использованием инфракрасного лазерного излучения / Г.В. Кузнецова // Медицинская наука и образование Урала. – 2008. – №4. – С. 86-87.
2. Кузнецова Г.В. Способ формирования ликворного свища в ситовидной пластинке при хирургическом моделировании назальной ликвореи у крыс / Г.В. Кузнецова, Ж.А. Голощапова, С.Т. Исмагилова, Т.Г. Кравченко, С.В. Чернов, В.Н. Фокин // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2009. – № 2. – С. 284-285.
3. Пат. 2395849 РФ Способ хирургического моделирования ликворного свища / Г.В.Кузнецова, С.Т. Исмагилова, Ж.А. Голощапова, Л.В. Астахова // №2009106895/14, заявл. 26.02.2009; опубл. 27.07.2010, Бюл. №21, 5 с.
4. Пат. 2346667 РФ Способ хирургического лечения назальной ликвореи / Г.В. Кузнецова, С.Т. Исмагилова, М.С. Ангелович // №2006123969/14, заявл. 04.07.2006; опубл.20.02.2009, Бюл.№5, 5 с.
5. Кузнецова Г.В., Разработка способа лечения ликворного свища с использованием инфракрасного лазерного излучения после хирургического моделирования назальной ликвореи у крыс. / Г.В. Кузнецова, С.Т. Исмагилова, Ж.А. Голощапова, Т.Г Кравченко // «Поленовские чтения»: материалы IX Всероссийской научно-практической конференции. – СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2010. – С.55-56.
6. Кузнецова Г.В. Хирургическое лечение стойкой назальной ликвореи эндоназальным доступом с применением инфракрасного лазерного излучения / Г.В. Кузнецова, С.Т. Исмагилова, А.И. Козель // «Лазерная медицина XXI века». - М. - 2009. – с.129-130.
7. Налимова Т.А Применение хирургического и терапевтического лазера в оториноларингологии / Т.А.Налимова, Г.В. Кузнецова, И.Г. Горсков, И.В. Раевский, С.Т. Исмагилова // Сб. научных работ «Популяционное здоровье, наш вклад в его укрепление». – Челябинск. – 2009. - С.66-70.
8. Кузнецова Г.В., Применение высокоинтенсивного лазерного излучения при эндоназальном лечении стойкой назальной ликвореи / Г.В.Кузнецова, С.Т. Исмагилова // V съезд нейрохирургов России. Материалы съезда / Под. ред. Сафина Ш.М.. – Уфа: «Здравоохранение Башкортостана», 2009. – С. 277.

На правах рукописи

КУЗНЕЦОВА

Галина Владимировна

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИНФРАКРАСНОГО ЛАЗЕРНОГО  
ИЗЛУЧЕНИЯ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ЛИКВОРНЫХ СВИЩЕЙ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

14.01.17. - хирургия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии

ГОУ ВПО УГМА Росздрава 30.06.2010 г.

---

Подписано в печать 06.09.2010. Формат 60x84 1/16. Отпечатано на «RISO».  
Уч.-изд. л. 1,00 Тираж 100 экз. Заказ 917

---

Отпечатано с файла заказчика в типографии ИП Ериклинцевой Е.В.,  
св-во 002839968 ИМНС РФ по Калининскому р-ну г. Челябинска,

454076, Челябинск, ул. Рылеева, 10,  
т/ф. 268-17-13, E-mail: vvp74@list.ru

