

*На правах рукописи*

**ЛЕБЕДЕВ**  
**Максим Сергеевич**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ МАЛОИНВАЗИВНОГО  
КОМБИНИРОВАННОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ  
АБСЦЕССОВ ПЕЧЕНИ**  
(экспериментальное исследование)

14.01.17 – хирургия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Уфа – 2015

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
**Алипов Владимир Владимирович.**

**Официальные оппоненты:**

**Прудков Михаил Иосифович** – заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор; ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России заведующий кафедрой хирургических болезней факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов.

**Пантелеев Владимир Сергеевич** – доктор медицинских наук; ГБУЗ «Республиканская клиническая больница имени Г.Г. Куватова», г. Уфа; заведующий отделением хирургическим № 2 «Лазерная хирургия».

**Ведущая организация:** Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «        »        2015 года в        часов на заседании диссертационного совета Д 208.006.02 при ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации ([www.bashgmu.ru](http://www.bashgmu.ru)).

Автореферат разослан «        »        2015 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета        **Федоров Сергей Владимирович.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Основными гнойно-воспалительными осложнениями при заболеваниях печени являются остаточные полости и абсцессы, частота которых достигает 12,8% (Альперович Б.И., 2010; Икрамов Р.З., Андреенков С.С., 2010; Alonso C.O. et al., 2001; Grimm L., Kristin A., 2009), а летальность колеблется от 12 до 46% (Викторов В.В., 2002; Нигматзянов С.С., 2004; Федоров В.Э., 2011; Овчинников В.А., Малов А.А., Акуленко С.В. и соавт., 2013). Благодаря внедрению ультразвуковой, компьютерной, магнитно-резонансной томографии (Старков Ю.Г., 2006; Шмидт Г., 2014; Coenegrachts K., 2007; Qayyum A., 2009) и применению чрескожной чреспеченочной холангиографии (Бахмутова Е.Е., 2010; Koh D.M., 2007; Bruegel M., 2008; Kandpal H., 2009), отмечается значительное увеличение количества и объема хирургических вмешательств у больных с очаговыми образованиями печени (Бебуришвили А.Г., 2007; Джабборов Ш.Р., 2009; Альперович Б.И., 2010, Алипов В.В. и соавт., 2014, 2015).

Интенсификация процесса лечения стала возможной при внедрении методик малоинвазивной хирургии под контролем ультразвуковой и компьютерной томографии (Колсанов А.В., Яремин Б.И., Чаплыгин С.С. и соавт., 2012; Тимербулатов В.М., Гарипов Р.М., Верзакова И.В. и соавт., 2012; Бебуришвили А.Г., Прудков М.И., Шулутко А.М. и соавт., 2013). Операции из мини-доступа, пункционное лечение кист и абсцессов различной этиологии и локализации, чрескожные дренирующие и эндовидеохирургические операции (Малиновский Е.Л., 2006; Старков Ю.Г., 2008; Блувштейн Г.А., Кулаков А.А., 2009; Тимербулатов М.В., Имаев А.Б., 2010; Yu G., 2007) привели к снижению частоты послеоперационных осложнений по сравнению с полостными операциями (Новомлинский В.В., Глухов А.А., Чвикалов Е.С., 2008, 2012; Альперович Б.И., 2010; Федоров И.В., 2010; Holzapfel K., 2008; Strasberg S.M., Helton W.S., 2011). Однако широкое применение малоинвазивных методик привело к появлению специфичных групп осложнений: кровотечению, желчеистечению и др. (Старков Ю.Г., 2007; Джантуханова С.В., 2009; Гальперин Э.И., Чевокин А.Ю., 2010; Varma R., Gupta J.K., 2008; Mohammadhosseini B., Shirani S., 2011). Увеличению частоты гнойно-септических осложнений способствуют наличие иммунодепрессии, нерациональное применение противомикробных средств, высокие персистентный потенциал и антибиотикорезистентность микроорганизмов (Столяров Е.А.,

Грачев Б.Д., Колсанов А.В. и соавт., 2004; Агаев Р.М., 2006; Заривчацкий М.Ф., 2006; Османов А.О., 2006; Суфияров Р.С., Тимербулатов М.В., Габидуллин З.Г. и соавт., 2010; CDC, 2013; WHO, 2014).

В настоящее время известны противовоспалительные, бактерицидные, регенеративные свойства низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) при лечении гнойных ран (Нартайлаков М.А., 2007; Пантелеев В.С., Мушарапов Д.Р., Нартайлаков М.А., 2011; Алипов В.В., 2012-2014; Добрейкин Е.А., 2015; Corazza A.V., 2007). При использовании чрездренажной лазерной терапии абсцессов печени и околопеченочных пространств нерешенным остается вопрос о равномерном распределении лазерного излучения по их неровной внутренней поверхности.

Медицина становится перспективной областью применения нанотехнологий (Дудакова Ю.С., 2012). Рядом экспериментальных и клинических исследований установлено, что наночастицы металлов и НИЛИ обладают выраженным антибактериальным действием (Сарвилина И.В., 2007; Бабушкина И.В., 2011, Мамонова И.А., Бабушкина И.В., 2012; Alipov V.V., 2012; Alipov V., Dobrejkin A., Urusova A. et al., 2014). Однако до настоящего времени работ по сочетанному применению лазерных и нанотехнологий при абсцессах печени в доступной нам литературе не оказалось.

Одним из путей улучшения результатов лечения практически любого заболевания является возможность экспериментальной разработки новых методик исследования и подходов к лечению данной патологии. В экспериментальной хирургии печени известны несколько способов моделирования кист и абсцессов печени (Нартайлаков М.А., 2008; Хижняк И.И., 2015 и др.). Каждый из экспериментальных методов имеет множество нерешенных вопросов: последующие осложнения, трудоемкость, длительность операции и т.д., поэтому требуется дальнейшая разработка варианта создания кист и абсцессов печени с контролируемыми характеристиками.

Таким образом, в настоящее время актуальным является моделирование и экспериментальное обоснование способов создания и малоинвазивного хирургического лечения остаточных полостей и абсцессов печени с использованием лазерных и нанотехнологий.

**Цель исследования:** экспериментально обосновать эффективность комбинированного применения низкоинтенсивного лазерного излучения и наночастиц меди при хирургическом лечении абсцессов печени.

### **Задачи исследования**

1. Изучить возможности управления световой энергией лазера и распределения лазерного излучения в моделированных полостях.
2. Доказать в эксперименте *in vitro* эффективность комбинированного применения низкоинтенсивного лазерного излучения и наночастиц меди на культуру *Staphylococcus aureus*.
3. Разработать способ транскутанной пункции печени у лабораторных животных.
4. Создать и обосновать способ моделирования кисты для последующего формирования абсцесса печени.
5. На основании результатов клинико-инструментальных, микробиологических и морфологических исследований доказать целесообразность комбинированного использования низкоинтенсивного лазерного излучения и наночастиц меди при хирургическом лечении моделированных абсцессов печени.

### **Научная новизна исследования**

Разработан новый способ моделирования фиброзной кисты печени в эксперименте (патент на изобретение № 2394278 от 10.07. 2010 г.).

В условия эксперимента предложен новый способ транскутанной пункции очаговых образований паренхиматозных органов (патент на изобретение № 2393812 от 10.07. 2010 г.).

Экспериментально апробирован новый способ лечения абсцессов в эксперименте (патент на изобретение № 2460533 от 10.09.2012 г.).

Впервые разработан способ комбинированного лечения абсцессов в эксперименте (патент на изобретение № 2475251 от 06.02.2012 г.).

На основании полученных экспериментальных данных предложен новый способ лазерного облучения внутренней поверхности полости биоткани (патент на изобретение № 2492882 от 13.04.2013 г.).

### **Теоретическое и практическое значение работы**

В результате проведенного эксперимента обоснована эффективность применения лазерной коагуляции при пункции очаговых образований печени, что обеспечивает профилактику возможные осложнения при данном методе лечения.

Доказана возможность использования интралипида как биологически совместимого и пригодного вещества для лазертерапии. Установлено, что

применение интралипида обеспечивает возможность управления пространственным распределением лазерной энергии в остаточной полости.

Экспериментально обосновано, что сочетанное применение лазеротерапии и наноразмерных частиц меди улучшает результаты комбинированного хирургического лечения абсцессов печени.

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

1. Использование интралипида в качестве рассеивающей среды позволяет управлять энергией лазерного излучения в моделированных полостях печени.
2. Применение хирургического лазера позволяет добиться надежного гемостаза и обеспечить профилактику кровотечения с желчеистечением при малоинвазивном способе лечения абсцессов печени в эксперименте.
3. Комбинированное применение низкоинтенсивного лазерного излучения и наночастиц меди при хирургическом лечении моделированного абсцесса печени ускоряет стабилизацию общего состояния животных, уменьшает диаметр и сокращает сроки закрытия полости абсцесса.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты диссертационного исследования применяются в учебном процессе кафедр оперативной хирургии и топографической анатомии, общей хирургии ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Материалы исследования внедрены в практику лечебной работы хирургических отделений № 1, № 2 ГУЗ «Саратовская городская клиническая больница № 2 им. В.И. Разумовского».

Теоретические положения и практические рекомендации диссертации представлены: в учебных пособиях «Топографическая анатомия и оперативная хирургия живота» под ред. проф. В.В. Алипова, 2008; «Основы топографической анатомии и оперативная хирургия» под ред. проф. В.В. Алипова, 2010; в учебно-наглядном пособии для интернов, ординаторов, аспирантов и врачей последипломной переподготовки «Инновационные технологии в оперативной хирургии печени». – Саратов, 2012.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на межрегиональных научно-практических конференциях (Саратов, 2007, 2009, 2010, 2011, 2012); XI итоговой открытой межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI

веке» (Киров, 2009); Всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы оперативной хирургии и топографической анатомии» (Москва, 2009); международной дистанционной научно-практической конференции «Внедрение инновационных технологий в хирургическую практику (фундаментальные и прикладные аспекты)» (Пермь, 2009); научном конгрессе «IV Международные Пироговские чтения», посвященном 200-летию со дня рождения Н.И. Пирогова (Винница, 2010); научной конференции с международным участием «Наследие Пирогова: прошлое, настоящее, будущее» (Санкт-Петербург, 2010); 35-й международной научно-практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии» (Харьков, 2011); XI съезде хирургов Российской Федерации (Волгоград, 2011); научной международной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии» (Дубай, 2010); научной общероссийской конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в медицине» (Сочи, 2011); Всероссийской рабочей химической конференции «Бутлеровское наследие – 2011» (Казань, 2011); 8-й международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современных наук – 2012» (Польша, 2012); научной конференции «Лазеры в науке, технике, медицине» (Доминиканская республика, 2012); 13-й международной научно-практической конференции «Современные проблемы гуманитарных и естественных наук» (Москва, 2012); 5-й Всероссийской научной Интернет-конференции с международным участием «Современные проблемы анатомии, гистологии и эмбриологии животных» (Казань, 2014).

### **Публикации**

По теме диссертационного исследования опубликованы 15 печатных работ, в том числе 5 – в журналах, входящих в перечень периодических научных и научно-практических изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ; получены 5 патентов РФ на изобретения.

### **Личный вклад соискателя**

Автором лично осуществлены сбор и анализ материалов по теме диссертационного исследования, планирование и выполнение собственно исследовательской работы. Составлены практические рекомендации и сформулированы выводы на основании проведенной аналитической и вариационно-статистической обработки полученных данных. Микробиологические исследования проведены при участии к.м.н. О.Г. Шаповал; морфологические исследования выполнены совместно с к.м.н. А.М. Напшевой.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 173 страницах текста компьютерного набора, состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа содержит 8 таблиц и 56 рисунков. Библиографический список включает в себя 260 отечественных и 111 иностранных источников.

## **Связь с планом научных исследований**

Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России «Разработка методов профилактики и лечения хирургических заболеваний брюшной и грудной полости», номер государственной регистрации – И140210203946.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

#### *Экспериментальное исследование in vitro*

**1. Изучение пространственного распределения лазерного излучения.** В качестве источника излучения использовали аппарат лазерный терапевтический «Матрикс» с лазерной головкой КЛЮ 4 со средней длиной волны 630 нм, а также лазерный хирургический аппарат Lasermed-1-10 с центральной длиной волны 1064 нм. Лазерное излучение передавалось по кварцевому световоду диаметром 600 мкм с числовой апертурой 0,15. Для управления пространственным распределением лазерного излучения (ЛИ) использовали рассеивающую среду – жировую эмульсию интралипида в изотоническом растворе хлорида натрия. Размер частиц интралипида в среднем составляет 97 нм, а минимальное поглощение ЛИ наблюдается в спектральной области 400-1100 нм (Staveren H.J., Moes C.J.M., Marle J., 1991).

Разработанный нами способ (патент на изобретение № 2492882) основан на изменении концентрации рассеивающей среды (интралипида), введенной в полость, с помощью чего создается управляемое лазерное освечивание внутренней поверхности полости. Распределение энергии лазерного излучения (РЭЛИ) от угла рассеяния (индикатриса рассеяния) фиксировали фотодиодом, закрепленным на гониометре ГС-5. Проведено 96 экспериментальных исследований по определению параметров рассеяния жировой эмульсии в зависимости от диаметра кюветы и длины волны ЛИ.



Пространственное РЭЛИ изучали в 26 исследованиях на 9 препаратах печени свиньи (нефиксированный материал). В препарате моделировали полости неправильной формы, заполняли рассеивающей средой и воздействовали лазерным аппаратом Lasermed-1-10 мощностью излучения 10 Вт в течение 2 мин. Результаты действия высокоинтенсивного лазера регистрировали тепловизором IRISYS серии IRI 4000 (Великобритания).

**2. Сравнение антимикробного эффекта комбинации низкоинтенсивного лазерного излучения и наночастиц меди.** Выполнено 200 исследований по определению антимикробного действия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ), наночастиц меди (НМ) и их комбинации в отношении чистой культуры клинического штамма *Staphylococcus aureus* с лабораторным шифром № 92. Суточные культуры опытного штамма *St. aureus*, выращенные из отдельной колонии на скошенном агаре, суспензировали в физиологическом растворе хлорида натрия, доводя до конечной концентрации  $3 \times 10^4$  КОЕ/мл по оптическому стандарту мутности МакФарланда. Полученную суспензию в объеме 0,1 мл засеивали в 0,7 мл мясо-пептонного бульона (МПБ) и использовали во всех сериях эксперимента.

Параметры НИЛИ выбирали, согласуя рекомендации В.Е. Илларионова (2013), В.В. Алипова (2012) с данными собственных исследований. В результате выполненных 38 исследований определены оптимальные параметры НИЛИ: центральная длина волны – 630 нм, мощность – 30 мВт, режим – непрерывный, время воздействия – 3 минуты. ЛИ передавалось по световоду, введенному в центр пробирки.

Наночастицы меди предоставлены ФГУП РФ «Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений» (г. Москва). Синтез наночастиц меди основан на плазменной переконденсации сырья с последующим резким охлаждением парогазовой смеси. При данном способе 95% синтезируемых частиц имели средний размер 60-80 нм. Диапазон концентраций НМ выбирали согласно выполненным 36 исследованиям по подбору минимальной ингибирующей дозы. В изотоническом (0,9%) растворе хлорида натрия готовили суспензию НМ в концентрациях 1, 10, 100 и 1000 мкг/мл, которую перед применением подвергали ультразвуковому диспергированию.

Выполнено 200 исследований в трех сериях экспериментов по изучению антимикробного действия узконаправленного и рассеянного НИЛИ (I серия), а

также различных концентраций НМ (II серия) и их комбинации с НИЛИ (III серия). Проведены исследования для определения возможного изолированного влияния рассеивающей среды на рост культуры *St. aureus*. Контролем служила культура микроорганизмов, внесенная в МПБ без эмульсии интралипида, лазерного воздействия и добавления наночастиц.

Во всех сериях условия культивирования создавались через 3 часа после инокуляции опытного штамма в МПБ. Данный временной промежуток соответствует логарифмической фазе роста культуры *St. aureus* (Е.В. Никитина, 2008), что максимально приближено к последующим экспериментам *in vivo*.

Мерные высевы по 0,1 и 0,01 мл на чашки с мясо-пептонным агаром (МПА) производили на 30, 60, 120 и 180 минуте культивирования. Количественный учет микроорганизмов проводили через 24 часа инкубации при температуре 37<sup>0</sup>С. Для определения микробного числа результат подсчета колоний в чашках Петри умножали на знаменатель соответствующего разведения и вычисляли среднее арифметическое число из полученных цифр. По полученным результатам рассчитывали количество бактерий в 1 мл исследуемого материала (Г.С. Сакович, М.А. Безматерных, 2005). При подсчете колоний на МПА учитывали наличие неизбежной ошибки выборочного метода и технической ошибки. Данные не учитывались при выявлении технической ошибки: существенное превышение величины ошибки средней арифметической над ошибкой Пуассона.

### *Экспериментальное исследование in vivo*

Исследования проведены на 40 белых крысах обоего пола массой 280-320 г и 62 кроликах-самцах породы Шиншилла в возрасте одного года с массой тела от 4,8 до 5,1 кг, содержащиеся в виварии ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России (заведующий виварием В.М. Кузьмина) в одинаковых условиях ухода и пищевого режима.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с приказами «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Минвуза СССР №742 от 13.11.1984 г.), «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.), предписаниями «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей» (Страсбург, 1986), положениями Женевской Конвенции 1985 года об «Интернациональных принципах биомедицинских исследований с использованием животных». Исследование не противоречит основам медицинской этике и имеет

рекомендации комитета по этике ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава» от 11.03. 2008 г.

Все манипуляции с животными проводили в соответствии с правилами асептики и антисептики на базе операционного блока кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

***Анестезиологическое пособие и выведение животных из эксперимента.*** Во всех группах животных использовали следующую схему обезболивания: раствор ксилазина гидрохлорид (Рометар) 2% в дозе 5,0 мг/кг внутримышечно, однократно, через 15 минут внутримышечно раствор Золетила 5% в дозе 7,5 мг/кг. Выведение животных из эксперимента осуществляли передозировкой наркоза – введение анестетика в летальной дозе, втрое превышающей наркотическую дозу.

***Пункция печени с лазерной поддержкой.*** Для определения оптимальных параметров высокоинтенсивного ЛИ выполняли пункции печени с разными значениями мощности в 80 исследованиях на 40 лабораторных крысах. Под наркозом выполняли лапаротомию с выведением в рану доли печени для последующей пункции. Световод лазера (Lasermid-1-10) устанавливали в просвет иглы и под действием ЛИ производили пункцию печени в медиальном направлении. В первой основной группе мощность ЛИ составляла 7 Вт, во второй – 8 Вт, в третьей – 9 Вт. В группе контроля пункцию печени выполняли без лазерной поддержки. После выведения животных из эксперимента осуществляли забор ткани печени для морфологического исследования.

***Транскутанную пункцию печени*** с лазерной поддержкой провели в 10 исследованиях на 5 кроликах I серии по запатентованной нами методике (патент на изобретение № 2393812). Исследования проводили под контролем аппарата УЗИ, выбирая наиболее массивную долю печени, непосредственно прилежащую к брюшной стенке, и оптимальную траекторию иглы.

***Для моделирования остаточной полости печени*** применяли двухканальный катетер диаметром 7 Ch с баллоном из латекса на дистальном конце изготовленный ООО «Минимально инвазивные технологии» г. Железнодорожный. Кроликам II серии (n=12) под наркозом выполняли верхнюю срединную лапаротомию. В ткань печени вводили катетер, баллон которого раздували физиологическим раствором хлорида натрия. Динамику морфологических изменений в печени при моделировании ОПП оценивали у животных, выведенных из эксперимента на 1, 3, 5 и 7-е сутки.

***Пункционный метод моделирования абсцесса печени под контролем УЗИ*** выполнен на 45 кроликах III серии по разработанной нами методике (патент на изобретение №2394278). Животным после введения в наркоз под контролем УЗИ выполняли пункцию печени с лазерной поддержкой. Через пункционную иглу вводили двухканальный катетер с баллоном, который раздували физиологическим раствором до необходимого диаметра. На 7-е сутки через второй канал катетера в полость вводили  $2 \times 10^9$  КОЕ/мл (С.А. Шалимов, 1989) клинического штамма *St. aureus* № 92. На 3-и сутки после инфицирования осуществляли контрольные высевы отделяемого из полости для качественной и количественной оценки микрофлоры. Гистологическое исследование созданного абсцесса печени выполнено у 5 животных, выведенных из эксперимента на 3-и сутки после инфицирования.

Сформированы четыре группы животных с моделированными абсцессами печени (n=40). В первую группу (контроль) включены животные, обработку абсцесса которым выполняли по стандартной методике (ежедневная санация полости раствором фурацилина 1:5000 с последующим введением 0,5 мл 1% раствора диоксида на 30 минут). Животным второй группы проводили чрездренажную терапию полости абсцесса НИЛИ. Животным третьей группы выполняли обработку полости суспензией НМ. Животным четвертой группы проводили обработку полости суспензией НМ в комбинации с действием НИЛИ. По истечении 14-и суток ежедневного лечения всем животным удаляли дренажи. Выведение животных из эксперимента осуществляли на 21-е сутки.

***Параметры НИЛИ при лечении абсцесса печени.*** Излучение лазерного аппарата «Матрикс» доставляли по световоду, введенному через катетер, в центральную область полости абсцесса. Предварительно полость заполняли рассеивающей средой – эмульсией интралипида в физиологическом растворе хлорида натрия. Плотность потока мощности (ППМ) определяли по формуле:  $ППМ = P/S$ , где P – выходная мощность излучения данного аппарата, S – облучаемая площадь, которая в свою очередь равна  $4\pi r^2$ , где  $\pi$  – величина равная 3,14, а r – радиус полости абсцесса. Выходная мощность излучения лазера составляла 30 мВт, расчетная ППМ равна 4,2 мВт/см<sup>2</sup>. Воздействие лазерным излучением проводили в непрерывном режиме ежедневно по 3 минуты в течение 14-и дней (В.Е. Илларионов, 2013).

***Обработку полости абсцесса НМ*** выполняли по разработанной нами методике (патент на изобретение №2460533). Эвакуировали содержимое из

полости абсцесса с последующим заполнением ее суспензией НМ концентрацией 0,1 мг/мл в физиологическом растворе хлорида натрия. Обработку проводили один раз в сутки в течение 14-и дней, время экспозиции составляло 30 минут.

*Комбинацию НИЛИ и НМ при лечении абсцессов* проводили по запатентованной нами методике (патент на изобретение №2475251). Ежедневно аспирировали содержимое из полости через катетер, заполняли полость абсцесса эмульсией интралипида с добавлением НМ. По санирующему каналу катетера в центр полости помещали световод и проводили терапию НИЛИ, после чего удаляли световод и через 30 минут осушали полость абсцесса.

Для создания и последующего контроля размеров остаточных полостей и абсцессов печени использовали ультразвуковой аппарат ALOKA SSD 500 с конвексными датчиками 3,5 МГц (Японии), магнитно-резонансный томограф Philips Achieva 1,5T, аппарат рентгеновский «АРМАН 9Л5».

*Общее состояние экспериментальных животных* (кроликов) оценивали в баллах по шкале, предложенной С.Б. Фадеевым и Д.В. Волковым (2002). Интегральная количественная оценка общего состояния животного выражалась средней арифметической количества баллов по оцениваемым критериям.

*Микробиологическое исследование* выполняли на 3, 5, 7, 9, 11 и 14-е сутки лечения. Содержимое абсцесса эвакуировали и 0,1 мл его использовали для приготовления трех последовательных десятикратных разведений в стерильном физиологическом растворе хлорида натрия. Из последнего разведения 0,1 мл засеивали на чашки Петри с МПА и через 24 часа инкубации в термостате при температуре 37°C идентифицировали микроорганизм и подсчитывали количество выросших колоний. Исходя из полученных значений, рассчитывали количество КОЕ St. aureus в 1 мл содержимого абсцесса.

*Морфологическое исследование.* Биоптаты ткани печени после проведения пункции, а также во время формирования остаточных полостей и лечения абсцессов печени фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Готовили парафиновые блоки по общепринятой методике после обезвоживания в серии спиртов возрастающей концентрации. Срезы препаратов толщиной 3-5 мкм депарафинизировали, окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологический анализ препаратов проводили с использованием светового микроскопа. Морфометрию выполняли с помощью окулярной стереометрической сетки Г.Г. Автандилова (Автандилов Г.Г., 2002).

**Статистическую обработку** цифрового материала результатов исследования осуществляли с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 и Microsoft Office Excel 2007. Количественные данные в исследуемых группах представлены в виде среднего арифметического (M), и среднеквадратического отклонения (SD). Сравнение групп выполнялось с использованием t-критерия Стьюдента. Различия интерпретировались как достоверные при вероятности ошибки менее 5% ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Оценка возможности управления распределением энергии лазерного излучения по внутренней поверхности полости

Для изучения пространственного распределения ЛИ проводили подбор диапазонов концентраций интралипида на экспериментальной установке, представленной на рисунке 1. В качестве источника ЛИ применяли: «Lasermid-1-10» и «Матрикс» мощностью 100 и 30 мВт соответственно. Оптический световод лазера вводили в центр цилиндрической кюветы (через стенку) заполненной жировой эмульсией. Угловое распределение ЛИ, рассеянное интралипидом, регистрировали фотодетектором (соосным с источником), прикрепленным к гониометру. Для получения диаграммы рассеивания света фотодетектор перемещали в диапазоне углов  $\pm 180^\circ$  с шагом  $5^\circ$ . Данные с фотодетектора передавались на измеритель лазерной мощности.

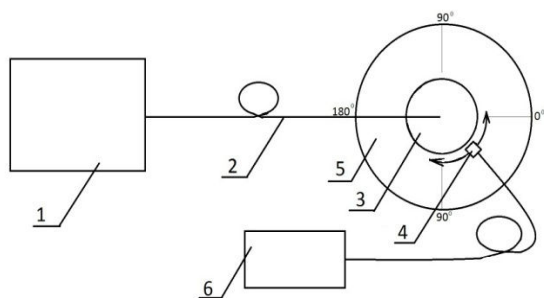


Рис. 1. Схема экспериментальной установки для подбора концентраций рассеивающей среды (1 – лазерный аппарат, 2 - оптический световод, 3 – кювета, 4 – фотодетектор, 5 – гониометр, 6 - измеритель лазерной мощности)

Экспериментально установлено, что концентрация рассеивающей среды, обеспечивающая равномерное РЭЛИ по внутренней поверхности полости, равна 0,24%. Концентрация жировой эмульсии 0,11% способствует РЭЛИ направленному преимущественно вперед. Преимущественное РЭЛИ назад обеспечивает эмульсия интралипида

концентрацией 0,36%. При переходе от равномерного рассеяния с уменьшением концентрации интралипида от 0,23% до 0,11% индикатриса рассеяния лазерного пучка непрерывно деформируется так, что становится остро направленной вперед. С ростом концентрации интралипида от 0,25% до 0,36% индикатриса рассеяния лазерного пучка становится «вытянутой» кзади.

Как показали эксперименты, при воздействии ЛИ длиной волны 1064 нм пространственное распределение соответствует воздействию ЛИ длиной волны 630 нм, то есть управление пространственным распределением ЛИ определяется не размерным эффектом (отношение размера рассеивающих частиц к длине волны излучения), а концентрационным.

Эффективность управляемого пространственного распределения ЛИ с помощью рассеивающей среды подтверждена на сформированных полостях неправильной формы нефиксированных препаратов печени свиньи. Полость заполняли эмульсией интралипида концентрацией 0,24%, проводили через стенку по игле световод и воздействовали ЛИ с центральной длиной волны 1064 нм мощностью 10 Вт в течение 2 мин. Результаты лазерного воздействия регистрировали тепловизером. На термограммах РЭЛИ по внутренней поверхности овальной и Г-образной полостей печени при концентрации рассеивающей среды 0,24% регистрировали равномерное нагревание всех стенок.

Таким образом, применение рассеивающей среды обеспечивает равномерное РЭЛИ по неровной, имеющей «карманы», внутренней поверхности полости.

#### **Сравнительная оценка противомикробного действия низкоинтенсивного лазерного излучения, наночастиц меди и их комбинации *in vitro***

В ходе проведенных исследований с изолированной рассеивающей средой, было установлено, что эмульсия интралипида в используемой концентрации не оказывает влияния на рост опытного штамма: количество КОЕ мерных высевок во всех временных интервалах достоверно не отличалось от контроля ( $p > 0,05$ ).

В I серии эксперимента после воздействия изолированного ЛИ отмечали интенсивный рост количества выросших колоний мерных высевок с 30 по 180 минуты культивирования ( $p > 0,05$ , относительно контроля). Установлено, что действие ЛИ в присутствии интралипида вызывало снижение количества колоний до  $2063 \pm 49,0$  на 30 минуте ( $p < 0,001$ , относительно контроля). К 60 минуте культивирования после применения равномерно рассеянного интралипидом ЛИ количество колоний опытного штамма снизилось до  $99 \pm 13,7$  ( $p < 0,001$ , относительно исходного значения). На 120 и 180 минутах культивирования рост количества КОЕ возобновлялся и составлял  $1212 \pm 57,5$  и  $5416 \pm 83,6$ , соответственно.

Нами установлено, что НМ (II серия) в концентрации 0,001 мг/мл уже через 30 минут после внесения в пробирку сдерживали рост опытной культуры *St. aureus*, количество КОЕ составляло  $3123 \pm 61,8$  ( $p < 0,001$ , относительно контроля). Среди

остальных вариантов количество колоний опытного штамма было значительно ниже:  $2994 \pm 64,7$  в  $0,01$  мг/мл,  $1334 \pm 37,2$  в  $0,1$  мг/мл и  $1178 \pm 34,2$  в  $1$  мг/мл ( $p < 0,001$ , относительно предыдущей концентрации). На 60 минуте культивирования более выраженное снижение количества КОЕ было в концентрации  $1$  и  $0,1$  мг/мл ( $0$  и  $42 \pm 9,2$ ) и менее выражено в концентрации  $0,01$  и  $0,001$  мг/мл ( $3550 \pm 61,1$  и  $4232 \pm 71,8$ ). На 120 минуте культивирования в минимальной опытной концентрации количество КОЕ оставалось наиболее высоким ( $8009 \pm 107,6$ ). В присутствии субингибирующей концентрации  $0,01$  мг/мл НМ отмечено существенное снижение количества КОЕ до  $1094 \pm 39,8$  ( $p < 0,001$ , относительно контроля). В опытных концентрациях меди  $1$  и  $0,1$  мг/мл рост клеток стафилококка отсутствовал. На 180 минуте культивирования количество *St. aureus* согласно полученным данным было также наиболее высоко в варианте с концентрацией НМ  $0,001$  мг/мл ( $13591 \pm 129,6$ ). В то же время, в присутствии более высоких доз меди количество *St. aureus* резко снизилось, о чем свидетельствует отсутствие колоний на МПА.

На 60 минуте культивирования присутствие интралипида и НМ способствовало более интенсивному снижению количества колоний *St. aureus*:  $4060 \pm 82,9$  в  $0,001$  мг/мл,  $2803 \pm 58,3$  в  $0,01$  мг/мл ( $p < 0,001$ , относительно соответствующих концентраций НМ без интралипида) и  $30 \pm 9,4$  в  $0,1$  мг/мл ( $p < 0,05$ , относительно  $0,1$  мг/мл НМ без интралипида). Концентрация меди  $1$  мг/мл с интралипидом полностью подавляла рост культуры *St. aureus*. К 120 минуте культивирования концентрации НМ  $0,001$  и  $0,01$  мг/мл с интралипидом снижали количества КОЕ до  $6539 \pm 88,5$  и  $980 \pm 31,6$ , соответственно ( $p < 0,001$ , относительно соответствующих концентраций НМ без интралипида). Рост колоний опытного штамма отсутствовал в концентрации НМ  $0,1$  и  $1$  мг/мл. На 180 минуте культивирование в присутствии интралипида и НМ в концентрации  $0,001$  мг/мл количество колоний *St. aureus* составляло  $13591 \pm 129,6$  ( $p < 0,001$ , относительно  $0,001$  мг/мл концентрации НМ без интралипида). Присутствие больших доз порошка меди продолжало сдерживать размножение: в  $0,01$ ,  $0,1$  и  $1$  мг/мл рост отсутствовал. Более выраженные противомикробные свойства НМ в присутствии интралипида, проявлялись на 60-180 минутах культивирования. По всей видимости, за счет повышения вязкости среды создаются условия для длительного сохранения равномерного распределения в объеме ультрадисперсного порошка меди.



В III серии количество КОЕ при комбинации узконаправленного ЛИ и опытных концентраций НМ достоверно не отличалось от количества колоний стафилококка соответствующих концентраций НМ (вторая серия) во всех временных интервалах высева ( $p > 0,05$ ).

В III серии на 30 минуте культивирования рассеянное интралипидом НИЛИ с НМ опытных концентраций 0,001; 0,01; 0,1; 1 мг/мл вызывало резкое подавление роста опытного штамма, количество КОЕ составляло  $148 \pm 24,8$ ;  $134 \pm 22,7$ ;  $100 \pm 26,6$ ;  $95 \pm 14,3$  ( $p < 0,001$ , относительно II серии). Данные концентрации НМ при тех же условия полностью подавляли жизнедеятельность *St. aureus* на 60, 120 и 180 минутах культивирования. Нами впервые выявлен эффект усиления противомикробного действия комбинации НМ и НИЛИ на культуру *St. aureus*. Это позволяет получать необходимый антибактериальный эффект при более низких концентрациях НМ, снижая тем самым токсическое действие данного вещества на организм в условиях *in vivo*.

Таким образом, узконаправленное ЛИ переданное по световоду без применения рассеивающей среды не проявляет бактерицидных свойств. Доказана эффективность противомикробного действия ЛИ равномерно рассеянного эмульсией интралипида. Применение суспензии НМ в качестве альтернативы антибактериальным препаратам возможно в концентрации 0,1 мг/мл. Нами впервые выявлен эффект усиления антимикробного действия НМ в комбинации с воздействием НИЛИ на культуру *St. aureus*, что позволяет получать необходимый антибактериальный эффект при более низких концентрациях НМ.

### **Оценка способа пункции печени с лазерной поддержкой**

С целью исключения развития кровотечения и желчеистечения при пункции печени проведена серия экспериментов на лабораторных крысах с применением хирургического лазера по разработанной нами методике. В ходе ряда исследований выявлено следующее: у животных первой (7 Вт) и второй (8 Вт) основных групп мощность ЛИ была недостаточной. В первой основной группе после удаления иглы из пункционного канала отмечено поступление крови в 85% случаев и желчи – 60% случаях. При гистологическом исследовании выявлено, что края пункционного канала в печени образованы некротизированными гепатоцитами, фибрином, темно-коричневого цвета массами, образованными за счет коагуляции крови, обширной полосой повреждения гепатоцитов; просвет канала заполнен свежими эритроцитами, что обусловлено кровотечением из поврежденного сосуда.

Во второй основной группе осложнения при пункции, в виде кровотечения и желчеистечения, наблюдали в 25 и 35%, соответственно. В группе контроля кровотечение из пункционного канала после проведения данной манипуляции отмечено в 70% исследований, а поступление желчи – 50%.

У животных третьей основной группы желчеистечения и кровотечения после удаления иглы из пункционного канала не наблюдали. Лазерное излучение мощностью 9 Вт обеспечивало свободное прохождение иглы через паренхиму органа. При морфологическом исследовании пункционный канал с практически пустым просветом, полоса повреждения гепатоцитов была значительно меньше, чем в препарате печени животных первой группы.

Апробация разработанной нами методики транскутанной пункции печени проведена на кроликах первой серии. Под наркозом в установленной при УЗИ проекции печени производили пункцию брюшной стенки. Далее через просвет иглы проводили световод лазера (Lasarmed-1-10) до дистального ее края. В присутствии ЛИ мощностью 9 Вт формировали внутripеченочный канал длиной 20 мм. Во всех наблюдениях образование гематомы в зоне пункции и по ходу иглы, а также свободной жидкости в брюшной полости на протяжении последующих 3-х суток по данным УЗИ отмечено не было.

### **Создание остаточной полости и абсцесса печени**

Моделирование остаточной полости печени (ОПП) проводили на кроликах второй серии. После лапаротомии, в толщу большей доли на глубину 15 мм вводили двухканальный катетер с баллоном, последний наполняли раствором хлорида натрия (1,8 мл), формируя полость диаметром 15 мм, катетер фиксировали к брюшной стенке, рану ушивали. Для ускорения образования фиброзной капсулы ежедневно через второй канал катетера вводили 0,5 мл 70% раствора этилового спирта с экспозицией 15 минут. Морфологическая картина на 7-е сутки после установки катетера показала, что стенка остаточной полости представлена плотной соединительной и грануляционной тканью.

*Пункционный метод моделирования ОПП под контролем УЗИ.* По разработанной нами методике животным третьей серии под наркозом выполняли транскутанную пункцию печени с лазерной поддержкой, формировали внутripеченочный канал глубиной 15 мм. После удаления световода через пункционную иглу вводили двухканальный катетер с баллоном, затем удаляли иглу. Баллон раздували 0,9% раствором хлорида натрия до диаметра полости 15 мм ( $V=1,8 \text{ см}^3$ ); катетер фиксировали к коже (рис. 2). Ежедневно через второй

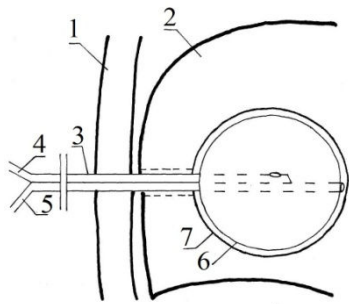


Рис. 2. Схема моделирования остаточной полости печени (1 – брюшная стенка, 2 – печень, 3 – катетер, 4 – первый канал катетера, 5 – второй канал катетера, 6 – баллон катетера в раздутом состоянии, 7 – стенка кисты)

канал катетера в формируемую полость вводили 0,5 мл 70% раствора этилового спирта на 15 минут. По истечении 7 суток, необходимом для формирования фиброзной капсулы, опорожняли баллон. При инструментальных исследованиях (УЗИ, МРТ, рентгенография) диаметр сформированных ОПП после опорожнения баллона составлял  $15\pm 0,4$  мм, толщина стенки –  $1,1\pm 0,3$  мм.

**Характеристики моделированного абсцесса печени.** Анализ микробиологических данных показал, что на 3-и сутки после инфицирования из полости высевается моноштамм *St. aureus* со средним количеством бактериальных клеток  $5,2\pm 0,6 \cdot 10^9$  КОЕ/мл. По данным УЗИ, абсцесс печени представлял собой полость округлой формы с неоднородным содержимым окруженной капсулой диаметром  $15,2\pm 0,4$  мм и толщиной стенки  $1,9\pm 0,3$  мм. При морфологическом исследовании установлено, что стенка сформированного абсцесса представлена дегенеративно-измененными гепатоцитами и очагами некроза. На границе стенки и содержимого – клеточная инфильтрация, грануляционная ткань, затем рыхлая соединительная, переходящая в плотную соединительную ткань.

### **Результаты малоинвазивного лечения абсцессов печени в эксперименте**

**Оценка общего состояния животных.** При оценке общего состояния кроликов установлено, что к 9-м суткам у всех животных четвертой группы фиксировали максимальные значения интегрального показателя, что на 2-е суток превосходит показатели животных третьей группы и на 5 суток – показатели животных первой и второй групп. Два животных контрольной группы погибли на 17 и 18-е сутки, во второй группе констатирована смерть одного животного на 19-е сутки. Причиной гибели явилось возобновление и нарастание клиники инфекционно-воспалительного процесса. По истечении 21 суток наблюдения балльный показатель общего состояния животных четвертой группы оставался на максимальных цифрах. Значение интегрального показателя в остальных группах был ниже: в первой группе -  $1,9\pm 0,11$ , во второй группе -  $2,1\pm 0,11$ , в третьей группе -  $2,78\pm 0,24$ .

**Оценка микробиологической картины.** У животных первой и второй групп количество КОЕ опытного штамма постепенно уменьшалось на всем протяжении

лечения, и только к 9-м суткам эксперимента было ниже критического уровня  $10^5$  КОЕ/мл. Очищение полости абсцесса от возбудителя у животных данных групп отмечали к 14-м суткам. В третьей группе микробная обсемененность полостей к 7-м суткам не превышала критического уровня, а полную элиминацию штамма *St. aureus* регистрировали на 11-е сутки. У животных четвертой группы к 3-м суткам лечения количества колоний снизилось до  $8,62 \times 10^5$ , а к 7-м суткам лечения посева аспирата из полости абсцесса роста не давали.

**Оценка ультразвуковых данных.** На 14-е сутки лечения минимальный диаметр полости абсцесса регистрировали у животных четвертой группы ( $5,1 \pm 0,6$  мм). В третьей группе размер полости составлял  $7,9 \pm 0,3$  мм, а в первой и второй группах –  $8,7 \pm 0,5$  мм и  $8,6 \pm 0,5$  мм, соответственно. В четвертой группе к 21-м суткам эксперимента по данным УЗИ полость абсцесса в печени животных не определялась. К данному периоду наблюдения диаметр полости животных третьей группы сократился лишь до  $5,2 \pm 0,4$  мм, что достоверно меньше, чем у животных первой ( $6,4 \pm 0,7$  мм) и второй ( $6,3 \pm 0,5$  мм) групп.

**Оценка морфологических исследований.** У животных первой группы гистологическая картина участков ткани печени в зоне абсцесса на 21-е сутки эксперимента была представлена гнойной полостью, окруженной выраженной соединительнотканной капсулой с прилегающей зоной дегенеративно-измененных гепатоцитов. Подобную морфологическую картину регистрировали у животных третьей группы. Гистологический анализ печени животных второй группы отличался значительным разрастанием соединительнотканной капсулы. В четвертой группе животных при гистологическом исследовании полость абсцесса замещена соединительной тканью, в прилежащей паренхиме печени обширная зона пролиферации печеночных клеток.

Таким образом, подводя итог проведенным исследованиям по моделированию полости печени, нами установлено, что баллон катетера обеспечивает длительное механическое раздражение, приводящее к развитию стабильного склерозирования участка печени, граничащего с баллоном. Ежедневное введение в полость этилового спирта вызывает развитие асептического воспаления. Все это делает возможным формирование остаточной полости печени с выраженной фиброзной стенкой в кратчайшие сроки. Предложенный способ моделирования ОПП является малотравматичным, обеспечивает точно заданный объем формируемой кисты, возможность динамического контроля параметров кисты, укорочение

сроков формирования фиброзной капсулы до 7 дней. Пункционный метод создания абсцесса печени с использованием двухканального катетера с баллоном на дистальном конце малотравматичен, обеспечивает в короткие сроки формирование полости с заданными характеристиками.

Результаты лечения моделированных абсцессов печени в группах экспериментальных животных констатировали следующее. Установлена значительная положительная динамика интегральной оценки общего состояния животных третьей и четвертой групп, что указывает на более благоприятное течение заболевания. Результаты лечения животных с изолированным применением НИЛИ сопоставимы с результатами стандартной санации. Применение суспензии НМ, эффективно подавляющей рост патогенных микроорганизмов, для санации гнойных полостей может выступать альтернативой противомикробным препаратам.

Таким образом, усиление антимикробного эффекта суспензии НМ под действием когерентного света одновременно вызывает запуск механизмов активации и самоограничения воспалительного ответа, что позволяет начать лечение без определения вида возбудителя, к 7-м суткам полностью подавить рост патогенной микрофлоры, к 9-м суткам лечения успешно стимулировать репаративные процессы и стабилизировать общее состояние животного, ускорить закрытие гнойной полости с полной её obturацией к 21-м суткам наблюдения.

## **ВЫВОДЫ**

1. Экспериментально доказана возможность управления энергией лазерного излучения при использовании интралипида в качестве рассеивающей среды.
2. Наивысшая противомикробная активность в отношении *Staphylococcus aureus* в эксперименте *in vitro* констатирована к 60 минуте при комбинации равномерно рассеянного низкоинтенсивного лазерного излучения и наночастиц меди в концентрации 1 мкг/мл.
3. Применение разработанного в эксперименте способа транскутанной пункции печени с лазерной поддержкой под контролем ультразвукового исследования обеспечивает профилактику возможных осложнений пункции – кровотечения и желчеистечение.
4. Предложенный способ моделирования фиброзной кисты печени под контролем ультразвукового исследования малотравматичен и позволяет оптимизировать сроки формирования абсцесса с заданными характеристиками.
5. Комбинированное хирургическое лечение моделированных абсцессов

печени с применением равномерно рассеянного низкоинтенсивного лазерного излучения и наночастиц меди обеспечивает очищение от возбудителя полости абсцесса к 7-м суткам, достижение максимального (3,00) интегрального показателя общего состояния животного к 9-м суткам и обтурацию полости гнойника к 21-м суткам наблюдения.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для клинического применения предложен способ управления энергией лазерного излучения в полостях со сложными формами. Возможность управления пространственным распределением лазерной энергией обеспечивает рассеивающая среда – жировая эмульсия интралипида.
2. Внедрение в клиническую практику транскутанной пункции паренхиматозных органов с использованием хирургического лазера под ультразвуковым контролем обеспечивает профилактику кровотечения и желчеистечения при лечении остаточных полостей и абсцессов печени.
3. Для экспериментальной хирургии разработан новый способ создания кисты печени с заданными характеристиками.
4. Полученные экспериментально концентрации наночастиц меди превосходят противомикробную активность применяемых средств и имеют перспективы для дальнейшего клинического использования.
5. Установленный в эксперименте эффект усиления антимикробного действия наночастиц меди после равномерно рассеянного интралипидом низкоинтенсивного лазерного излучения улучшает непосредственные результаты лечения абсцессов печени и открывает перспективы для клинической апробации данного малоинвазивного способа хирургического лечения.

### **Список научных работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Перспективы экспериментальных нанохирургических технологий в области онкологии / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, Н.А. Чепелевич, Е.В. Ворсонофьева // Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия: Ежегодник Российской ассоциации клинических анатомов в составе ВНОАГЭ. Приложение к журналу «Морфологические ведомости» / под ред. проф. И.И. Кагана. Вып. 8. Оренбург, 2008. С. 23-28.
2. **Перспективные нанотехнологии в области экспериментальной медицины / В.Н. Николенко, В.В. Алипов, М.С. Лебедев [и др.] // Нанотехника. 2009. № 3(19). С. 66-69.**

3. Новые нанотехнологии в области экспериментальной медицины / В.В. Алипов, А.Ф. Тараскин, **М.С. Лебедев** [и др.] // Внедрение инновационных технологий в хирургическую практику (фундаментальные и прикладные аспекты): матер. Междунар. дистанц. науч.-практ. конф., посвящ. памяти проф. В.К. Шмидта. Пермь, 2009. С. 13-15.
4. **Лебедев М.С., Цацаев Х.М.** Экспериментальное обоснование моделирования и пункции остаточных полостей паренхиматозных органов // Докторантские и аспирантские чтения: Инновации в медицинском образовании и науке: матер. межрегион. науч.-практ. конф. Саратов, 2010. С. 134-137.
5. **Алипов В.В., Лебедев М.С., Цацаев Х.М.** Экспериментальное обоснование использования нанотехнологий в хирургии желудка и печени // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2010. № 3(15). С 3-10.
6. Лазерные технологии при пункции моделированной фиброзной кисты печени / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, Х.М. Цацаев [и др.] // Применение лазеров в медицине и биологии: матер. междунар. науч.-практ. конф. Харьков, 2011. С. 153-155.
7. **Лебедев М.С.** Инновационные технологии в диагностике и хирургическом лечении очаговых образований печени (обзор) // Саратовский научно-медицинский журнал. 2011 Т. 7, № 2. С. 525-528.
8. Экспериментальные лазерные нанохирургические технологии. Первые результаты и перспективы / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, Х.М. Цацаев [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2011. Т. IV, № 2. С. 330-333.
9. Алипов В.В., **Лебедев М.С.**, Цацаев Х.М. Инновационные экспериментальные технологии в хирургии очаговых образований печени // Актуальные вопросы хирургии и онкологии: матер. межрегион. науч.-практ. конф. хирургов и онкологов. Саратов, 2011. С. 32-34.
10. Лазерные нанотехнологии в экспериментальной хирургии / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, Х.М. Цацаев [и др.] // Актуальные проблемы современных наук – 2012: матер. VIII междунар. науч.-практ. конф. Польша, 2012. Т. 36. С. 19-21.
11. Экспериментальное обоснование методов диагностики очаговых образований печени / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, М.Л. Чехонацкая [и др.] // Современные проблемы гуманитарных и естественных наук: матер. XIII междунар. науч.-практ. конф. М.: Изд-во «Спецкнига», 2012. Т. 2. С. 232-235.

12. Диагностика моделированных новообразований в экспериментальной медицине / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, М.Л. Чехонацкая [и др.] // Современные проблемы анатомии, гистологии и эмбриологии животных: матер. V Всерос. науч. Интернет-конференция с междунар. участием. Казань, 2014. С. 20-22.
13. **Управляемая внутриполостная лазерная терапия в экспериментальной хирургии** / **М.С. Лебедев**, **А.И. Урусова**, **П.П. Фролов** [и др.] // **Современные проблемы науки и образования. 2014. № 6. URL: [www.science-education.ru/120-15478](http://www.science-education.ru/120-15478).**
14. **Лебедев М.С.**, Урусова А.И., Андреев Д.А. Применение внутриполостной лазертерапии в хирургии моделированных абсцессов // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2015. Т. 5. № 4. С. 255-256.
15. **Лебедев М.С.** Транскутанная пункция паренхиматозных органов в эксперименте // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2015. Т. 5. № 4. С. 259-261.

#### **Изобретения**

16. Пат. 2393812 РФ, МПК А 61 В 18/22 Способ транскутанной пункции очаговых образований паренхиматозных органов / В.В. Алипов, С.В. Капралов, **М.С. Лебедев** [и др.] (РФ). - № 2008149361/14; Заявл. 15.12.2008; Оpubл. 10.07.2010. Бюл. № 19.
17. Пат. 2394278 РФ, МПК G 09 В 23/28 Способ моделирования фиброзной кисты печени в эксперименте / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, Х.М. Цацаев, Н.В. Алипов (РФ). - № 2008149296/14; Заявл. 15.12.2008; Оpubл. 10.07.2010. Бюл. № 19.
18. Пат. 2460533 РФ, МПК А 61 К 33/34, А 61 К 33/14, А 61 Р 31/02 Способ лечения абсцессов в эксперименте / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, С.Ю. Доронин [и др.] (РФ). - № 2011131910; Заявл. 28.07.2011; Оpubл. 10.09.2012. Бюл. № 25.
19. Пат. 2475251 РФ, МПК А 61 К 33/34, А 61 Р 31/02, А 61 N 5/067 Способ комбинированного лечения абсцессов в эксперименте / В.В. Алипов, **М.С. Лебедев**, С.Ю. Доронин [и др.] (РФ). - № 2012104033/14; Заявл. 06.02.2012; Оpubл. 20.02.2013. Бюл. № 5.
20. Пат. 2492882 РФ, МПК А 61 N 5/067 Способ лазерного облучения внутренней поверхности полости биоткани / В.В. Алипов, Г.Г. Акчурин, **М.С. Лебедев** [и др.] (РФ). - № 2011114437/14; Заявл. 13.04.2011; Оpubл. 20.09.2013. Бюл. № 26.



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

КОЕ	колониеобразующая единица
ЛИ	лазерное излучение
МПА	мясо-пептонный агар
МПБ	мясо-пептонный бульон
МРТ	магнитно-резонансная томография
НИЛИ	низкоинтенсивное лазерное излучение
НМ	наночастицы меди
ППМ	плотность потока мощности
РЭЛИ	распределения энергии лазерного излучения
УЗИ	ультразвуковое исследование