

На правах рукописи

БОЧКОВА Татьяна Владимировна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ
ОПЕРАЦИЯХ НА ЖЕЛУДКЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОПЛАЗМЫ
(экспериментально-клиническое исследование)**

14.01.17 – хирургия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Уфа – 2020

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

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор

Ганцев Шамиль Ханафиевич

Официальные оппоненты:

Кубачев Кубач Гаджимагомедович, доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская поликлиника №25» Невского района Санкт-Петербурга, заведующий хирургическим отделением.

Суковатых Борис Семенович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой общей хирургии.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2020 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.006.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, по адресу: 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (http://www.bashgmu.ru/science_and_innovation/dissertatsionnyy-sovet/dissertatsii) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «_____» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Федоров Сергей Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В последние годы в мировой практике сформировались тенденции широкого внедрения органосохраняющих операций на желудочно-кишечном тракте. Образовалось новое хирургическое направление – тканевая хирургия (Давыдов М.И., Ганцев Ш.Х., 2019). Сегодня это направление широко внедрено в эндоскопическую практику.

Развитие эндоскопических методов значительно изменило представления по лечению полипов желудка. Эндоскопическая резекция слизистой и эндоскопическая резекция с подслизистой диссекцией являются ведущими методами лечения эпителиальных опухолей желудка (Дуванский В.А., Князев М.В., 2015; Torre L.A. et al., 2015).

Наиболее опасным осложнением данной операции является кровотечение. Интраоперационные кровотечения возникают у 2,8% больных, которым выполнена полипэктомия и у 11,3% у пациентов с эпителиальными опухолями желудка более 2,0 см в диаметре (Burgess N.G. et al., 2014). Количество кровотечений во время эндоскопических операций резко возрастает при полипах размером более одного сантиметра в диаметре и составляют от 7,0 до 24,0% (Dittmar Y. et al., 2015).

В лечении таких больных целесообразно максимально использовать возможности эндоскопического гемостаза. Несмотря на значительные успехи в эндоскопическом лечении гастродуоденальных кровотечений, известные традиционные способы местного гемостаза не дают желаемых результатов. Решающим в исходе заболевания является то, насколько удастся достигнуть максимально стойкого гемостаза и предотвратить вероятность рецидива кровотечения (Шапкин Ю.Г. и др. 2013; Чередников Е.Ф. и др., 2018). В последние годы стало популярным применение гранулированных сорбентов с гемостатическими препаратами (Романцов М.Н. и др., 2017; Cherednikov E.F. et al., 2017).

Наиболее эффективным гемостатическим действием обладает плазма, обогащенная тромбоцитами (PRP). PRP широко применяется в различных областях клинической медицины: сердечно-сосудистой хирургии, торакальной хирургии,

травматологии, гнойной хирургии и других, обладая гемостатическими и репаративными свойствами (Глухов А.А. и др., 2010; Самодай В.Г. и др., 2010; Andreassen J.B. et al., 2016; Sarmiento A.G. et al., 2017).

Исходя из данных литературы, перспективным, на наш взгляд, является возможность применения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, при проведении эндоскопических операций на желудке.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время аутоплазма, обогащенная тромбоцитами (PRP), является источником обширных исследований в области тканевой инженерии и регенеративной медицины. PRP используется для ускорения заживления ран и восстановления тканей в стоматологии с 1998 года, в последние годы широко применяется в кардиохирургии, офтальмологии, челюстно-лицевой хирургии, в ортопедических операциях, пластической хирургии, спортивной медицине, косметологии.

Аутоплазма, обогащенная тромбоцитами (PRP), все чаще используется практически во всех областях хирургии для клинического лечения различных патологий мягких и твердых тканей, в первую очередь для ускорения образования костной ткани и лечения хронических незаживающих ран. Использование PRP сочетает в себе преимущество аутологичного фибринового сгустка, который будет способствовать гемостазу, а также обеспечение факторов роста в высоких концентрациях в месте дефекта кости или мягких тканей.

Однако, до настоящего времени, аутоплазма не применялась при эндоскопических операциях на желудке с целью профилактики и лечения кровотечений. Не разработан метод эндоскопического гемостаза, не проведена оценка эффективности предложенного метода в сравнении с традиционными технологиями физического и химического гемостаза. Не определены оптимальные концентрации тромбоцитов в плазме, необходимых для локального эндоскопического гемостаза при возникших геморрагических осложнениях.

Цель исследования

Повысить эффективность профилактики геморрагических осложнений у больных с полипами желудка, путем совершенствования эндоскопических

технологий с применением аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP).

Задачи исследования:

1. В лабораторном эксперименте на желудочно-кишечном тракте животных (кроликов) сравнить эффективность между основными методами гемостаза и с применением аутоплазмы.
2. Определить *in vitro* оптимальное соотношение плазмы и тромбоцитов, необходимое для проведения местного эндоскопического гемостаза.
3. Применить у больных с полипами желудка разработанную технологию эндоскопической резекции слизистой, с применением аутоплазмы, при тканевых операциях на желудке и оценить эффективность данного метода по показателям окончательного гемостаза и частоте рецидивов кровотечения.
4. Провести анализ эффективности усовершенствованного метода эндоскопического гемостаза по снижению длительности операций, сроку заживлению дефектов и срокам приема пищи после операции.

Научная новизна

Предложена новая методика гибридного и управляемого метода локального гемостаза при тканевых операциях на желудке, позволяющая выполнять эндоскопические операции при полипах больших размеров.

В работе впервые показана возможность улучшения локального гемостаза за счет применения гибридной технологии (локальный биологический управляемый гемостаз – электрохирургическое иссечение тканей), которая применена впервые.

Доказано, что использование для локального гемостаза биологической среды самого человека, содержащей высокую концентрацию тканевых гемостатических факторов, повышает кровоостанавливающий эффект.

В исследовании показано, что PRP (биопрепарат) для гемостаза может содержать тромбоциты, число которых может варьировать и управляться исследователем.

Установлено, что применяемое вещество аутоплазма (PRP), отличается высокой вязкостью по сравнению с обычными гемостатическими растворами, длительно сохраняет лифтинг-эффект в послеоперационном периоде.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведенное исследование имеет значимость, как в теоретическом, так и в прикладном плане. PRR, предназначенный для локального гемостаза показал свою высокую эффективность, предупреждая местное кровотечение при иссечении патологических образований со слизистой желудка. Это значит, что существующие механизмы местного гемостаза в состоянии обеспечить надлежащую остановку кровотечения и этим необходимо пользоваться при операциях различного масштаба, включая и эндоскопические операции. В теоретическом плане интерес вызывает и возможность дозировки тромбоцитов в плазме. От числа тромбоцитов, также зависит эффект гемостаза, что позволяет предложенную технологию считать управляемой.

Диссертационная работа имеет практическую направленность, так как ее основные результаты и предложения служат улучшению результатов хирургического лечения больных с патологией пищеварительной системы, на основе использования эндоскопических технологий. Необходимо отметить, что технология гемостаза при операциях на желудке легко воспроизводится, не требует дорогостоящего оборудования, не имеет противопоказаний и основ для биологического конфликта в организме пациента, что очень важно. Диапазон возможного применения технологии простирается от первичного эндоскопического кабинета и далее, до самых высоких уровней и инновационных технологий, включая и роботизированные методы.

Методология и методы исследования

В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения экспериментального и клинического этапов работы, выбраны адекватные объекты и подобран комплекс современных доказательных методов фундаментального и клинического исследования.

Всем пациентам проводилось стандартное клиническое обследование, включающее исследование общего анализа крови, мочи, биохимическое исследование крови, коагулограмму крови, электрокардиографию, рентгенографию грудной клетки, ультразвуковое исследование брюшной полости и малого таза у женщин, выполнялась видеокOLONоскопия или ирригоскопия. Больным проводилась консультация терапевта. При необходимости дополнительно проводились

консультации других специалистов. Для уточнения основного заболевания и характера патологического процесса использовали инструментальные методы исследования. Основными из них были рентгеноскопия желудка, гастроскопия и ультразвуковая эндоскопия. При выполнении гастроскопии особое внимание уделялось получению материала для гистологического исследования. Для этого во время исследования выполнялась полифокальная биопсия из полипа и фундальной его части, а при небольших размерах полипов сразу выполнялась тотальная биопсия с целью верификации заболевания.

Положения, выносимые на защиту:

1. Использование основных видов гемостаза при кровотечениях на органах желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных (кроликов) открывает возможности биологических методов.
2. Различные методы приготовления аутоплазмы позволяют получить биопрепарат с высоким содержанием тромбоцитов на 4-5 раз выше исходных уровней.
3. Результаты клинических исследований подтверждают, что применяемая аутоплазма, с контролируемым количеством тромбоцитов, приводит к снижению средней длительности гемостаза и частоты интраоперационных кровотечений с 18,6% до 5,0% ($p < 0,05$).
4. Усовершенствованный метод эндоскопического гемостаза с применением аутоплазмы с максимальной концентрацией тромбоцитов, содержащей факторы роста и цитокины, значительно улучшает сроки эпителизации язвенных дефектов, сокращает длительность операции и изменяет время начала приема пищи.

Личный вклад автора

Автор осуществила планирование научного исследования. Лично выполнены клинико-анатомические исследования, включающие в себя приготовление аутоплазмы для исследования, изучение особенностей состава биопрепарата, а также фотофиксация всех этапов исследования с последующей цифровой обработкой. Автор непосредственно осуществляла поэтапное рассмотрение результатов работы,

анализировала и оценивала достоверность полученных результатов. Сформулировала положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации по материалам исследования. Доля личного участия автора 85-90%.

Внедрение результатов исследования в практику

Тема диссертации входила в план научных исследований Башкирского государственного медицинского университета. Материалы диссертации используются в учебной и научно-исследовательской работе на кафедре хирургии с курсом эндоскопии ИДПО, госпитальной хирургии, онкологии с курсом онкологии и патологической анатомии ИДПО Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Результаты проведенных научных исследований внедрены в клиническую практику отделений эндоскопии Больницы скорой медицинской помощи №22 г. Уфа (БСМП №22), Республиканского клинического онкологического диспансера (РКОД).

Апробация диссертации и публикации

Основные материалы диссертации доложены и обсуждены на: VII Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы эндоскопии 2016» (Санкт-Петербург, 2016), Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы хирургии» (Уфа, 2018, 2019). Апробация диссертационной работы проведена на совместном заседании Проблемной комиссии «Хирургические болезни», кафедры госпитальной хирургии, кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии.

Опубликовано 7 научных работ, в том числе 4 в рецензируемом журнале ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом в базе данных Scopus, решение о выдаче патента от 31.10.2019 по заявке №2019131048/04 на изобретение «Гемостатическое средство».

Объем и структура диссертации

Текстовый материал диссертации изложен на 117 страницах, проиллюстрирован 32 рисунками и 17 таблицами. В список литературы включены 221 источник, из них 104 источника – авторы стран СНГ, 117 – иностранных. Диссертация состоит из

введения, 4-х глав, в которых изложены результаты собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Проведенное исследование состоит из 3 блоков. В первом блоке проводилось экспериментальное исследование на животных, во втором блоке – экспериментальное исследование по получению плазмы, обогащенной тромбоцитами, в третьем блоке - клиническое исследование – применение разработанного способа лечения полипов желудка.

Материалы и методы экспериментальных исследований

Нами были отобран 21 зверек рода Шиншилла (кролик), средняя масса которых колебалась с следующим диапазоне: 2500 ± 150 гр. Каждое исследование проходило с разрешения этического комитета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол №2 от 14.02.2018 г.) в соответствии с Директивой 2010/63/ЕИ Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях (Статья 27) от 22.09.2016; «Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных».

Животные были разделены на две группы – основную (10 кроликов) и контрольную группу (11 кроликов). В основной группе животных проводился локальный биологический управляемый гемостаз с использованием аутоплазмы (первая подгруппа 5 зверьков) и рекомбинантного человеческого белка (вторая подгруппа 5 зверьков). Перед проведением лапаротомии производился забор цельной крови из уха кролика в количестве 2-3 мл для предварительной подготовки биопрепарата-аутоплазмы. Центрифугирование проводилось при 1500 об. в течение 5 мин. Готовая аутоплазма вводилась в зону предполагаемой резекции или другой операции слизистой пищеварительного тракта кролика. Сформировывалась ко всему и гидроподушка создавая лифтинг- эффект для предупреждения кровотечения и перфорации.

Животным группы контроля в качестве гемостатического средства вводился раствор хлорида натрия 0,9%+гемостатический препарат (первая подгруппа 5 зверьков), а у второй подгруппы (6 зверьков) использовался физический гемостаз с помощью диатермокоагуляции. Основные исследования в желудке осуществлялись в области тела и его антральном отделе, где анатомически хорошее и интенсивное кровообращение. В желудке моделировалось состояние кровотечения. Скальпелем проводилось рассечение слизистого и подслизистого слоя стенки желудка по задней стенке, длиной 7-8 мм, глубиной 1 мм. В результате начиналось кровотечение. Время полного гемостаза фиксировалось с помощью секундомера.

Экспериментальные исследования по получению плазмы, обогащенной тромбоцитами

В исследование включены 23 пациента, которые согласились участвовать в исследовании и дали информированное согласие. Критерием исключения был анамнез соответствующих заболеваний или употребление любых препаратов, которые, как известно, влияют на функцию или концентрацию тромбоцитов в течение 21 дня до сбора крови. При получении P-PRP, объем цельной крови (WB) собирали в пробирки, которые содержали 3,2% цитрата натрия и пробирки по 2 мл с антикоагулянтом (EDTA R3) (Рисунок 1).

Первый этап:

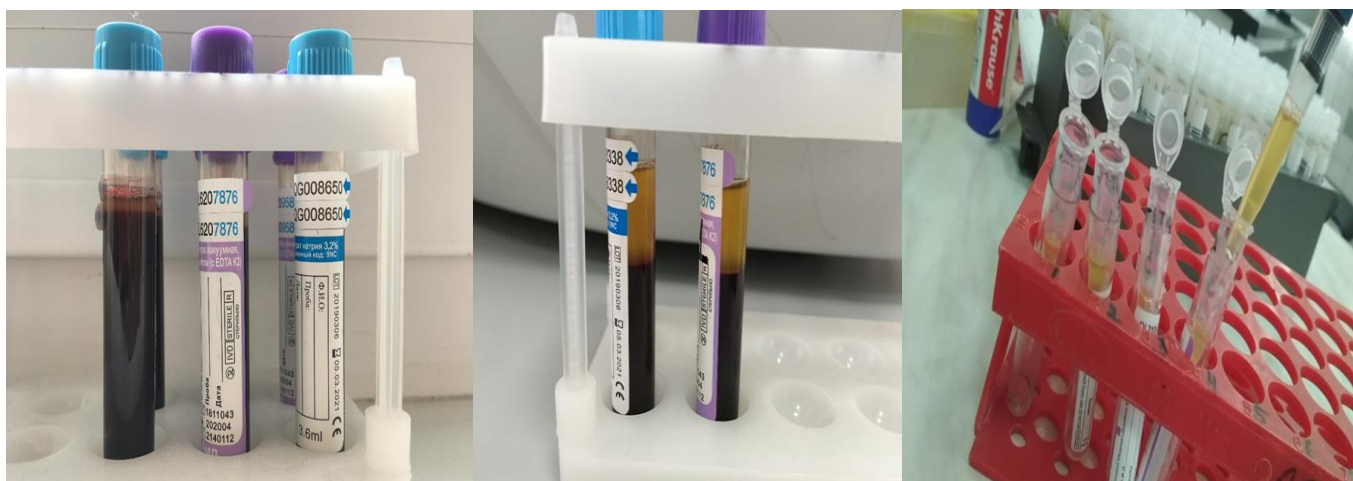


Рисунок 1 – Этапы получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами.

Первый этап центрифугирования цельной крови в пробирке с антикоагулянтом, выполнялся в диапазоне $100 \times g$ в течение 10 минут. В результате получали три слоя: самый нижний слой, включает в себя эритроциты; верхний слой, состоит из плазмы, тромбоцитов и лейкоцитов; промежуточный слой, состоящий из лейкоцитов. Верхний слой собирали с помощью пипетки. Этот этап выполняли осторожно, чтобы не повредить нижний слой эритроцитов и слой лейкоцитов. В зависимости от центробежной силы вращения собранный объем составлял от 1 до 2 мл. Данный образец затем переносили в пустую пробирку для гомогенизации, после тщательного перемешивания.

Второй этап: Приблизительно 1-2 мл верхнего слоя образца, прошедшего первую стадию отжима, снова центрифугировали в течение 10 минут при центробежной силе: $400 \times g$. Верхняя часть объема на половину была удалена, также, как и плазма с очень низким содержанием тромбоцитов (PPP). Объем, который остался с высоким содержанием тромбоцитов (P-PRP), гомогенизировали и проводили анализ на тромбоциты и WBC.

Материалы и методы клинического исследования

В исследование было включено 130 пациентов с полипами желудка, оперируемых с помощью эндоскопических методов по принципам тканевой хирургии.

В соответствии с поставленными задачами пациенты были разделены на две сопоставимые по основным медико-демографическим и клиническим показателям группы. В основной группе было 60 (46,2 %) пациентов с полипами желудка. Этим пациентам проводилась профилактика кровотечений с применением биопрепарата (аутоплазма с контролируемым составом тромбоцитов – PRP).

Группа сравнения представлена 70 (53,8%) пациентами, которым лечение проведено традиционными способами с применением современных эндоскопических технологий.

Критериями включения в исследование являлись: Полипы желудка – все типы с размерами более 3 см; Пациенты в возрасте от 18 лет и старше, наличие информированного добровольного согласия пациентов на медицинские вмешательства, возможность использования медицинских данных в научных целях.

К критериям исключения отнеслись: полипы желудка с основанием менее 3 см; наличие хронических заболеваний в стадии декомпенсации. Отсутствие информированного согласия.

Из 130 пациентов, мужчин было 49 (37,7%), женщин 81 (62,3%), средний возраст составил $58,6 \pm 7,2$ года. Пациентам, имеющим полипы желудка с диаметром основания более 3 см, выполнены тканевые эндоскопические операции с применением PRP и составили основную группу. Наибольшее количество полипов удаляли у пациентов в возрасте от 51-60 лет, всего в этом возрастном периоде удалено 78 (60,0%) полипов желудка.

При обследовании всех пациентов были обнаружены различные варианты гастритов. В исследованиях преобладал атрофический гастрит – у 77 (59,2%) больных, неатрофический гастрит обнаружен у 24 (18,5%), другие редкие варианты гастритов отмечены у 29 (22,3%) больных. Полипы больше выявлялись в дистальном отделе – у 65 (50%) больного, большой кривизне 53 (40,8%) и задней стенке 41 (31,5%) желудка. Редкое расположение полипов в проксимальных отделах желудка 13(10%). При лечении полипов желудка применялись различные эндоскопические способы, направленные на совершенствование гемостаза:

1. Эндоскопическая резекция слизистой (ЭРС) – удаление электропетлей с дополнительным введением биопрепарата (PRP) в основание полипа.
2. Эндоскопическая полипэктомия (ЭПЭ) с использованием аргоноплазменной коагуляции – с целью окончательного гемостаза.
3. Колпачковая ЭРС – эндоскопическая резекция слизистой с введением биопрепарата (PRP) смешанного с индигокармином для формирования лифтинг-эффекта при плоских и выступающих типов полипов.

Для предупреждения развития кровотечения и перфорации в момент эндоскопической резекции полипов желудка, использовалась аутоплазма (PRP) с

введением в нескольких точках. Показания к ЭРС полипов желудка с применением аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами: эпителиальные образования более 3 см; высокий риск кровотечения во время проведения эндоскопической резекции и в послеоперационном периоде; интраоперационная остановка кровотечения; профилактика перфорации.

Для диагностических и лечебных мероприятий, при лечении эпителиальных образований желудка использовалось эндоскопическое оборудование марки Olympus (Япония). Видеосистема ЭКЗЕРА-3 и гастроскопы GIF-N190.

Методы статистической обработки

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием статистических программ Microsoft Office Excel 2010 и «Statistica 10», с применением параметрических и непараметрических методов с учетом рекомендаций, изложенных в монографии «Доказательная медицина» (Котельников Г.П., Шпигель А.С., 2012). При нормальном распределении подлинность в различиях средних в двух несвязанных группах оценивалась по t-критерию Стьюдента, в связанных – по парному t-критерию Стьюдента. При распределении отличного от нормального, подлинность в различиях средних в двух несвязанных группах оценивалась по критерию Манна-Уитни (U), для связанных – по критерию Вилкоксона (W). При сравнении категориальных переменных определялся χ^2 . Корреляционный анализ проводили по коэффициенту Спирмена (ρ).

Результаты экспериментальных исследований на животных

При формировании искусственного повреждения слизистой желудка кролика в зоне введения аутоплазмы, отмечается быстрая остановка кровотечения – в среднем на 27 (22;31) секунде (Таблица 1). При чем, стойкий гемостаз сохранялся на протяжении всей экспериментальной работы. Эксперимент с диатермокоагуляцией зоны кровотечения показал свою низкую эффективность, выполнен за 89 (85; 100) сек, но, из-за формирования некротической зоны, а также с последующим глубоким некрозом, произошла быстрая перфорация слизистой желудка кролика.

Таблица 1 – Основные показатели результатов гемостаза в исследуемых группах

Группы и подгруппы исследования	Способ гемостаза	Время окончательной остановки кровотечения (в сек.*)	Рецидив кровотечения	p
Основная группа (n=10)				p _{1,2} <0,001 p _{1,3} <0,001 p _{1,4} <0,001 p _{2,3} <0,001 p _{2,4} <0,001 p _{3,4} <0,001
1 подгруппа (n=5)	Аутоплазма кролика	27 (22; 31)	нет	
2 подгруппа (n=5)	Рекомбинантный человеческий белок	57 (50; 65)	нет	
Группа контроля (n=11)				
3 подгруппа (n=5)	Физиологический раствор+этамзилат. Остановка кровотечения сформированным сгустком	130 (120;145)	у всех животных	
4 подгруппа (n= 6)	Диатермокоагуляция	89 (85;100)	нет	
Примечание – p - статистическая значимость различий показателей с показателями соответствующих подгрупп				
*Время остановки кровотечения по органам объединено в один показатель				

Результаты экспериментального получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами

Всем пациентам был произведен общий анализ крови до приготовления образцов плазмы с фиксацией исходных показателей тромбоцитов. Показатели тромбоцитов после первого этапа центрифугирования показали почти в 1,5 раза выше исходных. Полученную P-PRP с высокой концентрацией тромбоцитов использовали сразу во время эндоскопической операции с высоким риском интра- и послеоперационных осложнений, а также дополнительное введение при возникших осложнениях.

Для получения максимально восстановленных тромбоцитов была определена скорость центрифуги $100 \times g$ в течении 10 минут на первом этапе центрифугирования (Таблица 2).

Таблица 2 – Сравнение эффективности восстановления плазмы, тромбоцитов, лейкоцитов в верхнем слое плазмы после первой стадии вращения $100\times g$ в течение 10 минут. Объем WB: 3,5 мл. $M\pm SD$ (n-23)

Показатели	Эффективность восстановления (%), $P\pm m_p$			WBC состав ($10^3 / \text{мм}^3$), $M\pm SD$		
	Плазма	Тромбоциты	WBC	Лимфоциты	Моноциты	Гранулоциты
Кровь	-	-	-	1,72 $\pm 0,64$	0,31 $\pm 0,14$	4,01 $\pm 1,71$
6 мин.	43,9 $\pm 6,2^*$	72,3 $\pm 2,9$	26,6 $\pm 3,4^*$	3,18 $\pm 0,77^{**}$	0,47 $\pm 0,24^{***}$	1,20 $\pm 0,43^{**}$
10 мин	66,6 $\pm 4,5$	79,0 $\pm 7,8$	8,7 $\pm 1,7$	0,71 $\pm 0,34$	0,062* $\pm 0,03^{**}$	0,32 $\pm 0,15^{**}$

Примечание – * различия достоверны при $p<0,001$ в сравнении с предыдущим показателем; ** – в сравнении с исходным показателем при $p<0,001$ и *** – при $p<0,05$.

После того, как удалили половину верхнего объема плазмы (PPP слой) в оставшемся образце P-PRP, концентрация тромбоцитов была в 3 раза выше изначальной. Для получения максимальной концентрации тромбоцитов необходимо убрать 2/3 объема плазмы на втором этапе отжима.

Таблица 3 – Состав тромбоцитов и лейкоцитов в образцах P-PRP после второй стадии отжима ($400\times g$ и 10 мин), $M\pm SD$ (n-23)

P-PRP после второго шага отжима	$F_{c_{pt}}$	Тромбоциты $\times 10^3 / \text{мм}^3$	$WBC \times 10^3 / \text{мм}^3$
Кровь	-	232 \pm 28	-
1/2 объема плазмы удалена	3,1 \pm 0,9	668 \pm 34**	2,2 \pm 0,8
2/3 объема плазмы удалена	5,2 \pm 0,5*	1222 \pm 166**	3,3 \pm 1,1*

Примечание – * различия достоверны при $p<0,001$ в сравнении с предыдущим показателем; ** – в сравнении с исходным показателем при $p<0,001$.

P-PRP- аутоплазма с максимальным количеством тромбоцитов, превышающая исходных показатели тромбоцитов в 5-6 раз, получается при центрифугировании $400g \times 10$ минут (Таблица 3).

Исходя из всего перечисленного, можно сделать вывод, конечные результаты PRP зависят, прежде всего, от исходных показателей крови, времени и скорости центрифугирования, а также использования антикоагулянта в пробирке для взятия крови.

Результаты клинического исследования

Обследуемые группы пациентов были сопоставимы по медико-демографическим показателям, характеру, частоте сопутствующей патологии ($p > 0,05$), по локализации патологического очага ($p > 0,05$).

В основной группе мужчин было 21 (35%), женщин 39 (65%), в группе сравнения соответственно 28 (40%) и 42 (60%) ($\chi^2 = 0,34$; $df = 1$; $p > 0,05$). Средний возраст больных в основной группе составил $59,1 \pm 7,9$ года, в группе сравнения - $57,5 \pm 7,9$ года ($p > 0,05$). Основная доля пациентов во всех группах приходится на возраст 51-60 лет, что подтверждает взаимосвязь между заболеваемостью опухолями желудка и возрастом. В основной группе интраоперационные кровотечения были выявлены у 3 (5%) больных, во всех случаях кровотечения носили венозный характер. Остановка кровотечения осуществлена дополнительным введением PRP.

В группе сравнения эндоскопические операции выполнялись без предоперационной профилактики кровотечений, с введением в качестве гемостатического средства традиционных препаратов и использованием аргоноплазменной коагуляции в случае возникновения кровотечения.

В группе сравнения послеоперационные кровотечения встречались в 4,3 раза чаще и были выявлены у 13 (18,6%) пациентов. Кроме того, по характеру они оказались более тяжелыми. У 8 (11,4%) пациентов это были венозные кровотечения и гемостаз осуществлен аргоноплазменной коагуляцией. У 2 (8,6%) наблюдалось диффузное кровотечение, где гемостаз выполнен с помощью стандартных эндоскопических способов с введением гемостатических средств. В 3 (2,9%) случаях

больные группы сравнения оперированы из-за артериального кровотечения после эндоскопической резекции слизистой желудка, выполнена клиновидная резекция желудка.

Из полученных данных было установлено, что частота кровотечений в этой группе статистически значимо коррелировала с увеличением размера резецируемой слизистой и типа полипов. Так, с увеличением размера резецируемого полипа, росла частота кровотечений ($p=0,58$; $p=0,036$), что мы связываем с отсутствием адекватной профилактики, примененной в основной группе.

Для оценки полученных результатов и эффективности эндоскопического лечения в группах наблюдения были определены следующие показатели: частота осложнений (летальных исходов, интраоперационных кровотечений, перфораций) средний объем интраоперационной кровопотери, применение наркотических анальгетиков в послеоперационном периоде, средняя длительность операции, средние сроки пребывания в реанимации, средние сроки эпителизации дефекта слизистой, время начала приема пищи в послеоперационном периоде.

Как показал сравнительный анализ (Таблица 4), что по всем изучаемым показателям результаты лечения в основной группе оказались статистически значимо лучше, чем в группе сравнения. Так, частота интраоперационных кровотечений в основной группе значимо ниже, чем в группе сравнения – 3 (5,0%) против 13 (18,6%) ($\chi^2=4,33$; $p<0,05$). Интраоперационная кровопотеря в группе сравнения составила $110,7\pm 45,6$ мл, в то время как в основной группе – $29,3\pm 11,1$ мл ($p<0,001$).

Осложнение в виде перфорации желудка в послеоперационном периоде в группе сравнения было у 1 (1,4%) пациента, в основной группе не было.

Летальных исходов в послеоперационном периоде у пациентов обеих групп не выявлено. В основной группе наркотические анальгетики не применялись. В группе сравнения они использовались в среднем до $1,4\pm 0,34$ суток у 50% пациентов.

Таблица 4 – Оценка эффективности эндоскопического лечения в клинических группах

N п/п	Критерии эффективности	основная группа (n=60)	группа сравнения (n=70)	p
1.	Частота интраоперационных кровотечений (абс.,%)	3 (5,0%)	13 (18,6%)	p<0,05
2.	Средний объем интраоперационной кровопотери, мл (M±SD)	29,3±11,1	110,7±45,6	p<0,001
3.	Средняя длительность операции, мин (M±SD)	16,8±5,2	25,0±5,4	p<0,001
4.	Средняя длительность гемостаза, мин. (M±SD)	4,1±1,9	23,8±8,7	p<0,001
5.	Средние сроки пребывания в реанимации койко-дни (M±SD)	-	1,8±0,45	-
6.	Средние сроки эпителизации дефекта слизистой, сутки (M±SD)	15,3±4,7	25,4±5,4	p<0,001
7.	Время начала приема пищи в послеоперационном периоде, сутки (M±SD)	0,4±0,1	2,0±0,2	p<0,001

Средняя длительность операции, в основной группе составила 16,8±5,2 минут, в группе сравнения 25,0±5,4 минут (p<0,001).

Прием пищи пациентов в основной группе осуществлялся раньше – на 0,4±0,1 суток, в группе сравнения – на 2,0±0,2 сутки (p<0,001).

Применение метода тканевой эндохирургии с применением биопрепарата для локального гемостаза не требует нахождения пациента в РАО, в то же время средние сроки пребывания пациентов в реанимации составляли при осложнениях 1,8±0,45 койко-дня в группе сравнения.

Сроки эпителизации слизистой желудка существенно различались – в основной группе составили 15,3±4,7 дней, группе сравнения – 27,4±5,4 дней (p<0,001).

Для отображения результатов и величины эффекта использовался метод сопряженных таблиц.

Частота неблагоприятных исходов (ЧИЛ) или абсолютный риск (АР) в группе лечения (основной группе) – $ЧИЛ=A/(A+B)$, где А – наличие неблагоприятного

исхода (частота интраоперационных кровотечений), В – его отсутствие. ЧИЛ=3/60=0,050, (или 5,0%) (Таблица 5).

Таблица 5 – Таблица сопряженности для оценки изучаемого эффекта проведенного лечения в группах наблюдения

Группа	(неблагоприятный исход)		
	есть	нет	всего
Основная группа	3	57	60
Группа сравнения	13	57	70

Частота неблагоприятных исходов в группе сравнения (контроля) (ЧИК) или абсолютный риск (АР) составил $ЧИК=A/(A+B)$, где С – наличие неблагоприятного исхода в данной группе, D – его отсутствие. $ЧИК=13/70=0,186$, то есть частота рецидивов в группе сравнения составила 18,6%.

Снижение абсолютного риска (САР) в результате применения новых технологий составило $САР=ЧИЛ-ЧИК=0,050-0,186=-0,136=-13,6\%$.

Рассчитывался относительный риск (ОР) неблагоприятного исхода и его 95% доверительный интервал (95% ДИ). Относительный риск составил $ОР=ЧИЛ/ЧИК=0,269$ (95% ДИ (0,062-0,943; $p < 0,05$)=26,9%, что свидетельствует о том, что риск интраоперационных кровотечений в основной группе составил 26,9% от их риска в группе сравнения, то есть оказался в почти в 4 раза ниже.

Число больных, которые должны лечиться данным методом, для предотвращения неблагоприятного исхода у одного больного, $ЧНБЛ=1/САР=1/0,136=7,35$.

В результате применения предложенного нами метода произошло снижение относительного риска (СОР) неблагоприятного исхода. Расчеты показали следующее: $СОР=ЧИЛ-ЧИК/ЧИК=0,05-0,186/0,186=-0,73=-73,0\%$. Полученный результат свидетельствует о снижении риска интраоперационных кровотечений на 73%, что соответствует клинически значимому эффекту, и подтверждает преимущество применяемых нами методики.

ВЫВОДЫ

1. Высоким гемостатическим потенциалом, за счет превентивного локального введения биопрепарата, обладают аутоплазма и рекомбинантный человеческий белок. Время остановки кровотечения из дефектов слизистой желудочно-кишечного тракта животных сокращается с 130 секунд до 57-27 секунд ($p < 0,001$).
2. В результате подготовки аутоплазмы, с различными скоростями и временем центрифугирования, определены оптимальные концентрации тромбоцитов, которые в 4-5 раз превышают исходные показатели, для проведения гемостаза при тканевых операциях на желудке: с 232 ± 28 до $1222 \pm 166 \times 10^3 / \text{мм}^3$ ($p < 0,001$).
3. При полипах желудка, с основанием более 3 см в диаметре, дополнительное введение аутоплазмы с максимальным количеством тромбоцитов приводит к снижению средней длительности гемостаза с $23,8 \pm 8,7$ до $4,1 \pm 1,9$ минут ($p < 0,001$) и частоты интраоперационных кровотечений с 18,6% до 5,0% ($p < 0,05$), что соответствует клинически значимому эффекту и свидетельствует о снижении риска интраоперационных кровотечений на 73%.
4. Предлагаемый усовершенствованный метод эндоскопического гемостаза, позволяет оптимизировать хирургическое лечение у пациентов с полипами желудка за счет снижения длительности операции с $25,0 \pm 5,4$ до $16,8 \pm 5,2$ минут ($p < 0,001$), ускорения эпителизации послеоперационной раны с $25,4 \pm 5,4$ до $15,3 \pm 4,7$ суток ($p < 0,001$), более раннего приема пищи в послеоперационном периоде с $2,0 \pm 0,2$ до $0,4 \pm 0,1$ суток ($p < 0,001$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Метод гибридной технологии (локальный биологический управляемый гемостаз – электрохирургическое иссечение тканей) целесообразно применять при тканевых эндоскопических операциях с высокой опасностью осложнений (кровотечение, перфорация).
2. Целесообразно использование биопрепарата (PRP) с контролируемым содержанием тромбоцитов, число которых может варьировать и управляться в

зависимости от интенсивности кровотечения возникшего во время операции, а также в послеоперационном периоде.

3. Готовить аутоплазму, обогащенную тромбоцитами, необходимо за 30-60 мин до операции. Пациенту за час до операции производилась премедикация 1,0 мл 2% промедола и 1,0 мл 0,1% атропина внутримышечно. Производится забор крови из локтевой вены за 30-60 мин. до операции, в пробирки, которые содержат антикоагулянты. Первый шаг отжима выполняется с постоянным ускорением, для того чтобы отделить оставшейся объем крови (WB) от эритроцитов. После первого этапа отжима кровь в пробирке делится на три слоя: верхний слой, содержащий тромбоциты и лейкоциты (WBC), промежуточный слой, богатый лейкоцитами, и последний слой, в котором в основном присутствуют эритроциты. В пустую пробирку переносится лишь верхний слой либо верхний слой со слоистым покрытием. Далее идет второй этап вращения. В нем верхняя часть объема, состоящая из PRP (плазмы с низким содержанием тромбоцитов), удаляется для создания PRP (плазмы, обогащенной тромбоцитами)

4. Вводить аутоплазму в основание полипа следует в нескольких точках. Эндоскопическая игла вводится в подслизистый слой для поднятия и гидравлического отслоения слизистой с полипом от глубоких слоев стенки органа. Использовали эндоскопический инъектор с длиной иглы 3 мм, количество вводимого в подслизистый слой PRP варьировало от 2 до 10 мл. Для улучшения условий осуществления контроля безопасности (предупреждение перфорации стенки органа) лучшей визуализации подслизистого пространства и краев полипов, аутоплазму подкрашивали индигокармином. При возникновении интраоперационного кровотечения дополнительно вводится в зону геморрагии.

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

1. Бочкова, Т.В. Эндохирургическая тактика при полипах и раннем раке желудка (обзор литературы) [Электронный ресурс] / Т.В. Бочкова // Креативная онкология и хирургия. - 2014. — № 1 (07.03.2014). URL: <http://eoncosurg.com/e-ndohirurgicheskaya-taktika-pri-polipah-i-rannem-rake-zheludka-obzor-literatury>.

2. Бочкова, Т.В. Эндохирургическая тактика при полипах и раннем раке желудка / Т.В. Бочкова // **Креативная хирургия и онкология.** – 2014. – № 1-2. – С. 43-47.
3. Бочкова, Т.В. Современные тренды эндоскопической и лабораторной диагностики при раннем раке и полипах желудка / Т.В. Бочкова, Д.Р. Мухамадеева // **Креативная хирургия и онкология.** – 2014. – № 1. – С. 43-47.
4. Бочкова, Т.В. Профилактика кровотечений при эндоскопической резекции слизистой желудка с применением аргоноплазменной коагуляции (АРС) / Т.В. Бочкова // **Актуальные вопросы эндоскопии: материалы VII Всероссийской научно-практической конференции.** – Санкт-Петербург, 2016. – С. 93-94.
5. Бочкова, Т.В. Развитие тканевой эндохирургии при раннем раке и полипах желудка за счет совершенствования гемостаза / Т.В. Бочкова, Ш.Х. Ганцев // **Медицинский вестник Башкортостана.** – 2018. – № 5 (77). – С. 5-8.
6. Бочкова, Т.В. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в различных отраслях медицины / Т.В. Бочкова, Ш.Х. Ганцев // **Медицинский вестник Башкортостана.** – 2019. – № 5 (83). – С. 61-67.
7. Tatiana V. Bochkova Experimental substantiation of autoplasm application as a haemostatic agent in endoscopic in digestive tract/ Tatiana V/ Bochkova, Shamil Gantsev// **Serbian Journal of Experimental and Clinical Research.** – 2020. – №21 – P. 33-37. DOI:10.2478/sjecr-2020-0033.

Изобретения

Гемостатическое средство: пат. 2019131048/04 от 31.10.2019 Рос. Федерация / Амиров Р.А., Бочкова Т.В., Ганцев Ш.Х., Ганцев К.Ш., Кзыргалин Ш.Р., Ямиданов Р.С. – Заявл. 30.09.2019; опубли. 23.12.2019, Бюл. № 36.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЭПЭ – эндоскопическая полипэктомия

ЭРС – эндоскопическая резекция слизистой

PPP – плазма с низким содержанием тромбоцитов

P-PPP – плазма с высоким содержанием тромбоцитов

PRP – аутоплазма, обогащенная тромбоцитами

БОЧКОВА Татьяна Владимировна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ
ОПЕРАЦИЯХ НА ЖЕЛУДКЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОПЛАЗМЫ
(экспериментально-клиническое исследование)**

14.01.17 – хирургия

*Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук*

Издательская лицензия № 06788 от 01.11.2001 г.

ООО «Издательство «Здравоохранение Башкортостана»

450000, РБ, г. Уфа, а/я 1293.

Подписано в печать 22.09. 2020 г.

Формат 60×84/16. Гарнитура Times New Roman.

Бумага офсетная. Отпечатано на ризографе.

Усл. печ. л. 1,4. Уч. изд. л. 1,28.

Тираж 100. Заказ № 322.