

Размахнин Евгений Владимирович

**КОНТАКТНЫЕ ЛИТОЛИЗ И УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ЛИТОТРИПСИЯ
В ЛЕЧЕНИИ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.17 – хирургия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Новосибирск – 2015

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор,

заслуженный врач Российской Федерации

Лобанов Сергей Леонидович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Плеханов Александр Николаевич

(Бурятский государственный университет, заведующий кафедрой факультетской хирургии медицинского института, г. Улан-Удэ)

доктор медицинских наук, профессор,

заслуженный врач РФ

Мерзликин Николай Васильевич

(Сибирский государственный медицинский университет, заведующий кафедрой хирургических болезней педиатрического факультета, г. Томск)

доктор медицинских наук, профессор

Устинов Геннадий Георгиевич

(Алтайский государственный медицинский университет, профессор кафедры факультетской хирургии с курсом хирургии ФПК и ППС имени профессора И И. Неймарка, г. Барнаул)

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

Защита состоится «_____» _____ 2015 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.03 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; <http://ngmu.ru/dissertation/369>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2015 года

Учёный секретарь

диссертационного совета

М. Н. Чеканов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Распространенность желчнокаменной болезни (ЖКБ) в последние десятилетия имеет устойчивую тенденцию к росту. Обращаемость по поводу этого заболевания в Российской Федерации составляет около 1 млн человек в год. При этом заболеваемость по разным данным колеблется от 5,3 до 40 % и около 25 % населения старше 60 лет имеет желчные камни (Винник Ю. С. с соавт., 2013; Глушков Н. И., 2010; Сарвилина И. В., 2015; Halldestam I. et al., 2009). Одним из наиболее тяжелых проявлений желчнокаменной болезни является холедохолитиаз, который встречается у 10–35 % больных с калькулезным холециститом (Охотников О. И., 2011; Славин Л. Е., 2010; Шаповальянц С. Г., 2013). Частота летальных исходов при хирургическом лечении острого холецистита в сочетании с камнями общего желчного протока у больных пожилого и старческого возраста может достигать 43 % (Быстров С. А., 2011; Габриэль С. А., 2012; Усович А. К. с соавт., 2008). Лечебная тактика при холедохолитиазе, особенно осложненным механической желтухой, представляет серьёзную проблему. Нередко требуется расширение объема операции: выполнение обширной лапаротомии с ревизией желчных путей. Существующие методики лапароскопической ревизии внепеченочных желчных протоков достаточно трудоемки, находятся в стадии разработки и усовершенствования и не всегда успешны (Майстренко Н. А., 2010; Хертек Ш. Б., 2012; Шевченко Ю. Л. с соавт., 2008;). Недостатком доступа является сложность лапароскопических манипуляций на общем желчном протоке (Оноприев А. В., Аксенов И. В., 2014). Одним из недостатков ЭПСТ (эндоскопической папиллосфинктеротомии) при лечении холедохолитиаза является нарушение замыкательной функции сфинктера и развитие недостаточности большого дуоденального сосочка. Кроме того, ЭПСТ не гарантирует удаление крупных конкрементов. При этом осложнения после данной манипуляции возникают в 6,1–10,6 % случаев (Баулина Е. А. с соавт., 2014; Назаренко П. М. с соавт., 2014). Учитывая указанные обстоятельства, обсуждается вопрос о необходимости сохранения сфинктерного аппарата большого дуоденального сосочка, особенно у лиц молодого возраста, при отсутствии признаков папиллостеноза (Thornton D. J. A. et al., 2002).

До настоящего времени обоснованной индивидуализированной тактики коррекции резидуального холедохолитиаза нет. Нередко при этом выполняют сложные повторные операции, летальность после которых превышает 12 % (Ломаченко Ю. И. с соавт., 2014; Холов К. Р., 2007).

Использование методов контактного разрушения камней внутри альтернативного нехирургического лечения желчнокаменной болезни, появившихся в прошлом столетии, имеет ряд недостатков. Контактные литолитические агенты обладают достаточно выраженными побочными эффектами и действуют в основном только на холестериновые конкременты. Применение методов интракорпоральной контактной литотрипсии ограничено в связи с особенностями анатомического расположения общего желчного протока, что не позволяет произвести разрушение конкрементов в его просвете при помощи волноводов прямой конфигурации, используемых в урологии.

В связи с вышеизложенным поиск решений по малотравматичному лечению различных проявлений желчнокаменной болезни у лиц, имеющих высокий риск оперативного вмешательства, особенно при резидуальном холедохолитиазе, является актуальным.

Цель работы. Разработать новое направление контактного разрушения желчных камней путем литолиза и интракорпоральной ультразвуковой литотрипсии в экспериментальных условиях для последующей клинической апробации метода.

Для реализации этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить возможности атомно-эмиссионного спектрального анализа для качественного и количественного исследования элементного состава желчных конкрементов, определяющего устойчивость камней к разрушению.
2. Разработать и апробировать литолитическую смесь, отличающуюся высокой эффективностью и низкой токсичностью в опытах *in vitro* и *in vivo*.
3. На экспериментальной модели желчнокаменной болезни изучить возможность контактного литолиза, а также оценить безопасность и последствия его применения.
4. Разработать устройство для интракорпоральной ультразвуковой литотрипсии, позволяющее осуществлять разрушение конкрементов в просвете общего желчного протока как во время открытых, так и при лапароскопических операциях.

5. Подобрать оптимальные параметры ультразвука, необходимые для выполнения адекватной литотрипсии.

6. Изучить результаты использования контактной ультразвуковой литотрипсии в экспериментах *in vivo*.

7. Апробировать возможность использования волновода для контактной ультразвуковой литотрипсии при лапароскопическом лечении холедохолитиаза.

Научная новизна. Обоснована возможность использования атомно-эмиссионного спектрального анализа для исследования элементного состава желчных камней, конкременты разделены на группы по количеству содержания кальция, определяющего устойчивость камней к разрушению.

Впервые для растворения желчных камней предложено использовать октановую кислоту в составе литолитической смеси, обладающей низкой токсичностью и активностью в отношении всех типов конкрементов (патент на изобретение № 2535150 от 09.01.2013). Исследованы морфогистохимические особенности реакции тканей организма экспериментальных животных, возникающие на введение литолитической смеси «октановая кислота-глицерин», заключающиеся в незначительном остром экссудативном воспалении и умеренных дистрофических изменениях покровного эпителия желчного пузыря. Гистоархитектоника всех исследованных органов (тонкой кишки, почек) была сохранена, их ткани и клетки не имели существенных патологических изменений. Только в паренхиме печени отмечались явления обратимой белковой дистрофии части гепатоцитов.

Разработана оригинальная конструкция волновода, позволяющая при лапароскопических операциях выполнить контактную ультразвуковую литотрипсию в просвете общего желчного протока. Подобраны оптимальные параметры ультразвука для выполнения эффективной и безопасной литотрипсии (патент на изобретение № 2556519 от 19.08.2013)

Экспериментально обоснована безопасность контактной литотрипсии в просвете желчевыводящих путей для мягких тканей окружающих органов, исследованы патоморфологические изменения печени, желчного пузыря, тонкого кишечника в разные сроки после ультразвукового воздействия частотой 26 500–26 700 Гц, выходной мощностью 40–65 Вт.

Выявлен синергический эффект при ультразвуковом (УЗ) озвучивании желчных камней в среде предлагаемой литолитической смеси, что на 30 % усиливает эффект литотрипсии.

Впервые выполнено разрушение конкрементов в просвете общего желчного протока во время лапароскопической операции с использованием волновода оригинальной конструкции.

Практическая значимость исследования. Доказана зависимость эффективности литолиза и литотрипсии от состава кальция в желчных конкрементах, разработан способ исследования состава желчных камней методом атомно-эмиссионного спектрального анализа, позволяющий прогнозировать возможность разрушения конкрементов.

Экспериментально обоснован метод контактного литолиза, позволяющий воздействовать на холестериновые и пигментные желчные конкременты литолитической смесью, обладающей низкой токсичностью.

Разработана и апробирована в клинике контактная ультразвуковая литотрипсия в просвете общего желчного протока с использованием волновода оригинальной конструкции.

Результаты исследования могут служить основой для разработки новых малоинвазивных методов лечения желчнокаменной болезни.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Камнерастворяющая смесь «октановая кислота-глицерин» в соотношении 1:1 обладает удовлетворительными литолитическими свойствами в отношении как холестериновых, так и пигментных желчных конкрементов.

2. Контактный химический литолиз с использованием предлагаемой камнерастворяющей смеси в дозе 0,2 мл/кг внутрипузырно эффективен и безопасен при экспериментальном холелитиазе в условиях живого организма.

3. Контактная ультразвуковая литотрипсия частотой 26 500–26 700 Гц, выходной мощностью генератора 35 % – 40–65 Вт эффективна при дроблении желчных камней различного состава.

4. Контактное и опосредованное воздействие ультразвука на мягкие ткани *in vivo* безопасно при использовании рекомендуемых параметров.

5. Конструкция волновода для ультразвуковой литотрипсии длиной 400 мм, имеющего изогнутую конфигурацию под углом 40° между направлением

оси в основании проксимальной части и дистальным концом рабочей части, диаметром дистальной части 4 мм позволяет выполнить контактную литотрипсию в просвете общего желчного протока при лапароскопическом доступе.

Апробация работы. Материалы диссертации апробированы на Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 50-летию образования Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2003), на межрегиональной научно-практической конференции «Хирурги Забайкалья в России» (Чита, 2007), на Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 55-летию Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2008), на девятой региональной межвузовской научно-практической конференции «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 2010), на межрегиональной научно-практической конференции «Вершины эндохирургии – вершины Алханая» (Чита, 2010), на 17-м Международном конгрессе хирургов-гепатологов стран СНГ «Актуальные проблемы хирургической гепатологии» (Уфа, 2010), на 75-й итоговой студенческой научно-практической конференции с международным участием, посвященной 80-летию со дня рождения академика Б. С. Гракова (Иркутск, 2011), на 10-й региональной межвузовской научно-практической конференции молодых ученых (Чита, 2011), на 11-й региональной межвузовской научно-практической конференции молодых ученых (Чита, 2012), на Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 60-летию Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2013), на заседании Забайкальского краевого общества хирургов (Чита, 2013), на 17-м съезде Российского общества эндоскопических хирургов (Москва, 2014), на межвузовской научно-практической конференции с международным участием «Проблемы медицины в современных условиях» (Казань, 2014), на 5-м съезде хирургов Сибири и Дальнего Востока «Актуальные проблемы хирургии» (Новосибирск, 2014), на третьей Европейской конференции по биологическим и медицинским наукам (Вена, Австрия, 2014), на Российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы малоинвазивной хирургии», посвященной 20-летию Читинского городского центра эндохирургии (Чита, 2015) и на совместном заседании кафедр факультетской хирургии с курсом урологии, госпитальной хирургии, детской хирургии, кафедры общей и специализированной хирургии с

курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, кафедры травматологии и ортопедии Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2014).

Формы внедрения. Разработанный метод контактной ультразвуковой литотрипсии и атомно-эмиссионный анализ состава желчных конкрементов внедрен в работу хирургических отделений Городской клинической больницы № 1, Дорожной клинической больницы (г. Чита). Полученные в ходе исследования данные применяются в научно-педагогической деятельности на кафедре факультетской хирургии с курсом урологии Читинской государственной медицинской академии. Изданы пособия для врачей: «Холедохолитиаз», «Диагностика и лечение холедохолитиаза», – под грифом УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию ВУЗов России.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 34 научные работы, из них 22 – в журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций основных результатов исследования, в том числе получены 2 патента на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 261 странице машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 40 таблиц и 61 рисунка. Указатель литературы представлен 483 источниками, из которых 158 – зарубежных авторов.

Личный вклад автора. Автору принадлежит решающая роль на всех этапах работы, включающих выбор направления исследования, постановку конкретных задач, планирование и проведение исследований, анализ полученных данных, обобщение и оформление полученных результатов, подготовка их к публикации, написание диссертации и автореферата.

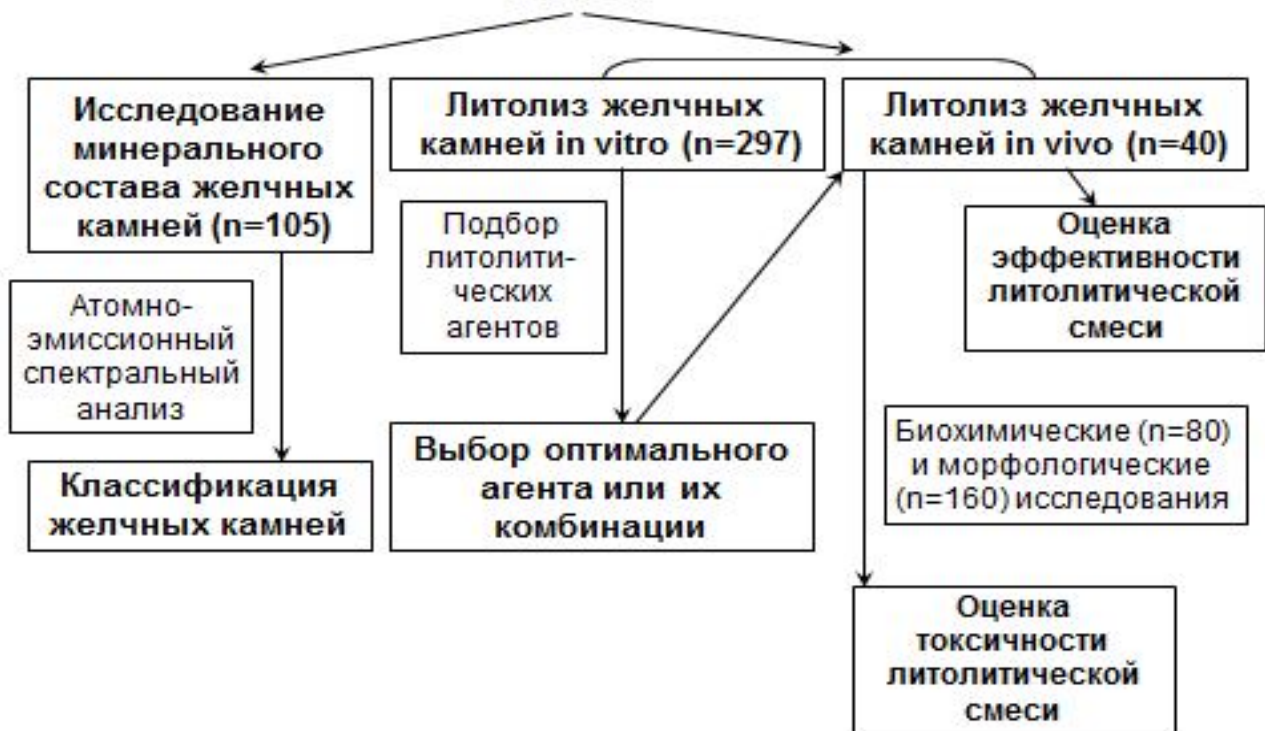
МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии (протокол № 2 от 06 ноября 2009 г.).

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Дизайн исследования

I этап



II этап

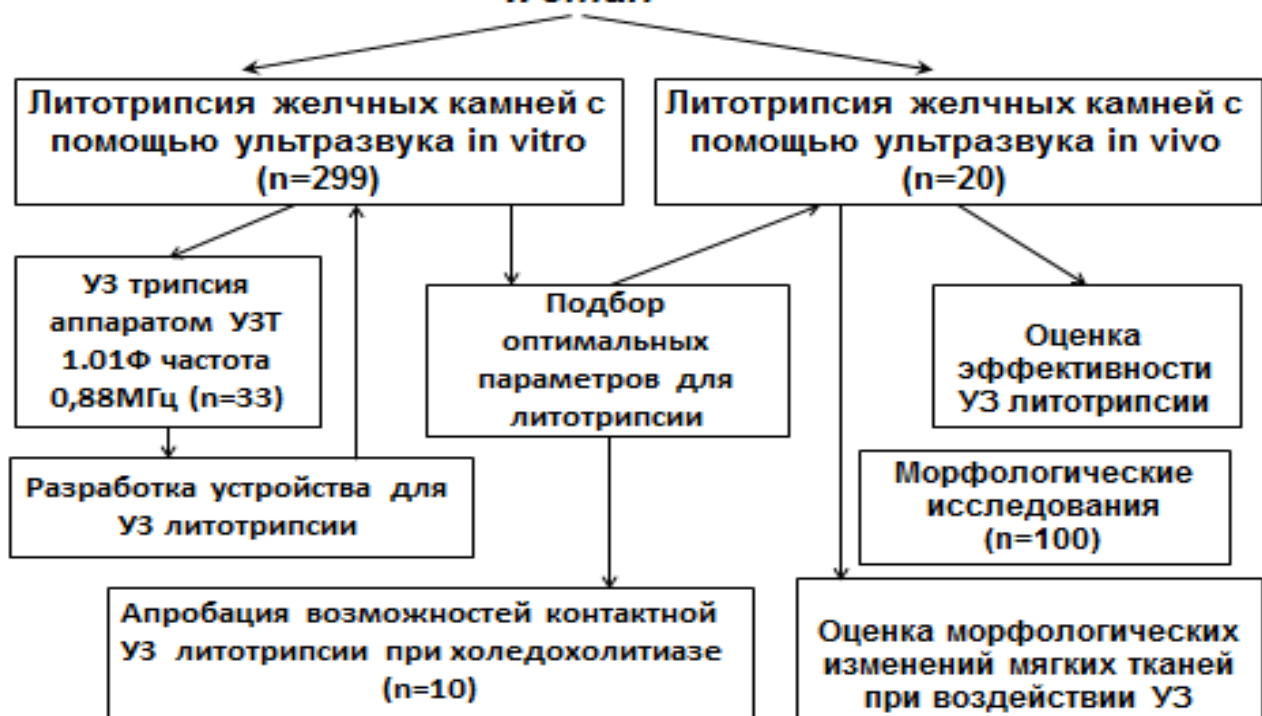


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Для решения поставленных задач был исследован элементный состав 105 желчных конкрементов, извлеченных у пациентов, оперированных по поводу желчнокаменной болезни. Каждый конкремент оценивался макроскопически (Борисов А. Е., 2003), взвешивался после их высушивания при помощи лабораторных весов ВЛТЭ-1100 («Госметр», Санкт-Петербург). Химический состав желчных конкрементов определяли атомно-эмиссионным спектральным методом анализа (АЭСА) с определением количественного состава 19 основных элементов: В, Ва, Вi, Со, Cr, Ni, Р, Pb, Sr, V, Li, Al, Са, Mg, Fe, К, Na, Si, Ti на спектрографе ИСП-30 и методом молекулярного спектрального анализа на спектрометре «Инфралюм ФТ-801» в диапазоне волновых чисел $4000\text{--}500\text{см}^{-1}$ посредством усреднения 16-ти интерферограмм и последующим их преобразованием Фурье, с разрешением 4 см^{-1} .

Для проведения экспериментальных исследований по контактному растворению желчных конкрементов *in vitro* использовались октановая кислота 99,0 % ($n = 143$), глицерин 99,3 % ($n = 89$), октанол 98,0 % ($n = 35$), этилпропионат $> 99,7\%$ ($n = 30$), метил-трет-бутиловый эфир $> 99,0\%$ ($n = 30$), хенодезоксихолевая кислота (ХДХК) $> 98,0\%$ ($n = 10$), урсодезоксихолевая кислота (УДХК) $> 99,0\%$ ($n = 10$), цитрат натрия 95,0 % ($n = 12$), трилон Б ($n = 15$) и гепарин ($n = 12$). В экспериментах *in vitro* было использовано 297 конкрементов, извлеченных у пациентов, оперированных по поводу желчнокаменной болезни. Из них низкоминерализованных – 123, среднеминерализованных – 89, высокоминерализованных – 85.

Предварительно взвешивая каждый камень (m_1 , мг), помещали их в пробирки и заливали соответствующим реактивом. При этом в течение нескольких часов поддерживалась постоянная температура, равная температуре тела человека ($36,2\text{--}37,0\text{ }^{\circ}\text{C}$) при помощи термостата ТС-1/20 СПУ. По истечении определенного времени (t , мин) эксперимент прерывался, остатки конкремента извлекались из пробирки, высушивались и повторно взвешивались (m_2 , мг). Для более удобной оценки результатов нами был разработан условный коэффициент (K), отражающий время растворения 1 мг вещества данного конкремента в изучаемом реактиве. Коэффициент (K) высчитывали по следующей формуле: $K = t / m_2 - m_1$.

В эксперименте *in vivo* по контактному литолизу использовано 40 половозрелых кроликов самцов, массой 2,8–3,4 кг. Соблюдались правила этического и гуманного обращения с животными, используемыми в учебных или научных целях, согласно положениям приказа Минвуза СССР № 742 от 13.11.1984 и приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 № 267 «Правила лабораторной практики» в Российской Федерации.

Под наркозом (ксилазин 0,05 мл/кг внутримышечно + золетил 1,5 мг/кг внутримышечно) с добавлением местной анестезии (0,25 % – 40,0 новокаина) выполнялась минилапаротомия в проекции дна желчного пузыря 3,0–4,0 см. Вскрывался желчный пузырь, подсаживался конкремент, извлеченный из желчного пузыря пациентов, оперированных по поводу желчнокаменной болезни, после чего накладывалась холецистостома при помощи подключичного катетера. Лапаротомная рана ушивалась послойно, наглухо. В пяти случаях были подсажены среднеминерализованные конкременты, в 25 – высокоминерализованные. Для контроля было использовано 5 кроликов с подсаживанием конкрементов в просвет желчного пузыря, без наложения холецистостомы и, соответственно, без введения растворителя. Вторая группа контроля: 5 кроликов – животные с наложенной холецистостомой, без подсадки конкремента. Во время операции всем кроликам производился забор крови из яремной вены для биохимического исследования. В крови исследовалось содержание билирубина, активность аланинаминотрансферазы (АлАт), аспартатаминотрансферазы (АсАт) и амилазы, концентрация мочевины, креатинина по стандартным общепринятым методикам. На третьи сутки после операции через холецистостому начинали вводить литолитическую смесь, состоящую из октановой кислоты с глицерином в соотношении 1 : 1 в объеме 0,5 мл 1 раз в день, из расчета 0,2 мл/кг массы животного, после чего дренаж пережимали. В начале экспериментальных исследований введение продолжали до 5 дней, после чего кроликов забивали с забором материала на гистологическое исследование. В связи с тем, что на 5-е сутки происходило полное растворение камней, постепенно уменьшали количество дней введения до 2. Кроликам контрольной группы № 2 литолитическую смесь вводили в течение 3–4 дней. Кроликов выводили из эксперимента на 3-и (n = 12), 5-е (n = 10), 7-е (n = 9), 14-е (n = 9) сутки после прекращения введения

литолитической смеси.

Для гистологического исследования забирали стенку желчного пузыря, тонкой кишки, ткань печени, почек, а также забирали кровь для контрольного биохимического анализа. Из фрагментов паренхиматозных органов вырезались фрагменты не менее $1,0 \times 1,0 \times 0,5$ см, из полых органов – вырезали кусочки на всю толщину стенки органа. Вырезанный материал фиксировали в 10 % водном растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, а после подвергали парафиновой инфильтрации по общепринятой методике. Отобранные фрагменты ткани размером $1,0 \times 1,0 \times 0,5$ – $1,5 \times 1,5 \times 0,5$ см подвергались процедуре фиксации в растворе 10 % нейтрального формалина в течение 24 часов, при комнатной температуре. После фиксации материал промывался в течение 1,5 часов в проточной воде. В дальнейшем достигалось обезвоживание тканей путем проведения ее через спирты возрастающей крепости – от 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 96 %, 100 %. Экспозиция в первых 5 растворах достигала 3 часов; в последних 2 растворах 96 % и абсолютного спирта – по 12 часов. Обезвоженные фрагменты ткани подвергали химическому уплотнению путем инфильтрации и заливки в парафин. Для этого была использована готовая гистологическая среда для заливки Histomix (гистомикс; Биовитрум, Россия) с точкой плавления до 54 °С. Фрагменты из абсолютного спирта переносились в три смеси абсолютного спирта с хлороформом в равных соотношениях сроком на 1 час в каждую. Затем переносились в расплавленный насыщенный раствор гистомикса в хлороформе (массовое соотношение смеси 1 : 1), где они находились в термостате при температуре 37 °С до 1 суток. Последующая заливка проводилась в термостате при температуре 56 – 58 °С в трех порциях гистологической среды, экспозицией 1, 2 и 3 часа соответственно. Окончательные гистологические блоки формировались с помощью гистологических форм и полимерных кассет-оснований. Срезы с полученных блоков толщиной 4–5 мкм изготавливались на ручном микротоме санного типа МС-2 с помощью одноразовых микротомных ножей Feather R35 (Япония), имеющих угол заточки 35 °С. Обзорные препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовали для общей оценки состояния исследуемых тканей, пикрофуксином по Ван Гизону (для селективной окраски соединительной ткани) и альциановым синим (pH = 2,5) с постановкой

ШИК-реакции (для выявления кислых и нейтральных мукополисахаридов и углеводов в тканевых образцах).

Степень выраженности альтерации отдельных клеточно-тканевых компонентов органов определяли отдельно: при 400-кратном увеличении производился подсчет не менее 50 целевых клеточных элементов в 5 случайно выбранных полях зрения. В каждом поле зрения количественную оценку уровня повреждения проводили в баллах по следующей шкале: отрицательный уровень – если клетки не имели морфологических признаков некроза и количество клеток с признаками тяжелой дистрофии было менее 10 % в поле зрения; 1 балл – при наличии 10–25 % клеток; 2 балла – 25–50 % клеток; 3 балла – 50–75 % клеток; 4 балла – более 75 % клеток.

Степень выраженности воспалительных изменений также определяли отдельно для каждого из структурно-функционального компонента изучаемого органа: при 400-кратном увеличении производился подсчет присутствующих клеток лейкоцитарного пула и тканевых макрофагов в 5 случайно выбранных полях зрения. В каждом поле зрения количественную оценку уровня воспаления проводили в баллах по следующей шкале: отрицательный уровень – если признаки лейкоцитарного пула отсутствовали; 1 балл – при наличии 10–25 % от всех представленных клеток органа/ткани в изучаемом поле зрения; 2 балла – 25–50 % клеток; 3 балла – 50–75 % клеток; 4 балла – более 75 % клеток.

Для экспериментов по контактной литотрипсии ($n = 33$) на начальном этапе использовался физиотерапевтический аппарат для ультразвуковой терапии УЗТ-1.01Ф (производства завода «ЭМА», Россия). Обработка ультразвуком (далее «озвучивание») конкремента производилась в среде реагента в непрерывном режиме с частотой 0,88 МГц и интенсивностью 1,0 Вт/см² при помощи пьезоэлектрического излучателя ИУТ 0,88-1.03Ф площадью 1 см². Воздействие производилось при температуре, равной температуре тела человека.

Для выполнения следующей серии экспериментов ($n = 266$) был создан ультразвуковой комплекс совместно с сотрудниками Забайкальского института железнодорожного транспорта и предприятия «Ультразвуковая техника-ИНЛАБ», г. Санкт-Петербург. После взвешивания камня (m , мг),

определения его структуры, степени минерализации атомно-эмиссионным методом конкремент помещался в пробирку, заливался желчью, полученной при пункции желчного пузыря или соответствующим реактивом, и производилось озвучивание с помощью предлагаемого устройства. Расстояние от торца волновода до конкремента при этом выдерживалось до 0,5 см. Частоту и мощность озвучивания подбирали экспериментально. При этом фиксировали время фрагментации конкремента на более мелкие части. Эксперимент прерывали при разрушении камня до мелких фрагментов ($d \approx 0,5$ мм). Фиксировалось общее время эксперимента (t , с). Для более удобной оценки результатов выведен коэффициент (K), означающий время трипсии конкремента в секундах до мелких фрагментов ($d \approx 0,5$ мм) в пересчете на 1 мг массы камня. Коэффициент (K) высчитывался по следующей формуле: $K = t/m$.

В экспериментах *in vivo* использовано 20 половозрелых беспородных кроликов самцов массой 2,8–3,4 кг. Под наркозом (золетил 1,5 мг/кг внутримышечно в комбинации с 0,05 мл/кг ксилазина внутримышечно) с добавлением местной анестезии 0,25 % – 40,0 новокаина выполнялась минилапаротомия в проекции дна желчного пузыря 3,0–4,0 см. Вскрывался желчный пузырь, подсаживался конкремент, извлеченный из желчного пузыря пациентов, оперированных по поводу желчнокаменной болезни. Средняя масса подсаженных конкрементов $42,05 \text{ мг} \pm 11,45 \text{ мг}$, от 21 до 61 мг, из них 7 – низкоминерализованных, 6 – среднеминерализованных и 7 – высокой минерализации. После чего через холецистотомическое отверстие вводился разработанный нами волновод и производилось озвучивание полости пузыря в режиме: выходная мощность 35 %, от 40 до 65 Вт, частота 26 500–26 700 Гц в течение 4–5 мин. На стенку желчного пузыря накладывался глухой шов. После чего для изучения патологических эффектов указанных параметров ультразвука озвучивали стенку тонкой кишки и диафрагмальную поверхность печени по 3–7 мин путем непосредственного контакта торца волновода с поверхностью печени и кишки. Тощую кишку и печень озвучивали со стороны наружной оболочки, желчный пузырь – со стороны слизистой. Кроме того, для изучения опосредованного воздействия ультразвука на мягкие ткани озвучивали печень и стенку тонкой кишки в течение 4–6 мин через слой жидкости 0,5 см, предварительно заполняя брюшную полость физиологическим раствором. Зона

озвучивания предварительно маркировалась путем прошивки тканей маркерным шовным материалом. Выводили животных из эксперимента на 3-и, 5-е, 7-е и 14-е сутки после операции путем внутривенного введения токсической дозы тиопентала натрия.

Для гистологического исследования забирали ткань желчного пузыря, участки озвученной тонкой кишки, фрагменты печени из зоны УЗ воздействия.

Количественную морфометрическую оценку геометрических размеров зоны некроза, некробиоза ткани проводили с помощью программной морфометрической линейки пакета программ «Optika Vision Pro» Version 2.7 (Optika Microscopes; Italia) и выражали в микрометрах (мкм).

В клинике произведена апробация возможности использования контактной ультразвуковой литотрипсии у 10 пациентов с холедохолитиазом. Хирургическое вмешательство проводилось согласно разрешению этического комитета Читинской государственной медицинской академии (протокол № 2 от 06 ноября 2009 г.) и при подписании письменного информированного согласия больных.

Критерии включения в исследование: механическая желтуха на фоне вколоченного конкремента терминального отдела общего желчного протока.

Критерии исключения из исследования: 1) подозрение на стриктуру терминального отдела общего желчного протока или стеноз большого дуоденального сосочка; 2) отказ пациента от проведения интраоперационной УЗ литотрипсии.

Средний возраст пациентов составил ($65,6 \pm 13,2$) года. Мужчин в пролеченной группе было 3, женщин – 7.

Диагноз холедохолитиаза выставлен на основании клинических, анамнестических данных, ультразвукового исследования, ЭРПХГ, биохимических маркеров холестаза. Все вмешательства по поводу холедохолитиаза проводились под общим обезболиванием с миорелаксацией и искусственной вентиляцией легких. Трое пациентов, на этапе становления методики, оперированы из лапаротомного доступа через верхне-срединную лапаротомию, 7 пациентов оперированы лапароскопически на аппаратуре и инструментарием фирм «Auto Suture» (США), «Karl Storz» (Германия), «Эндомедиум» (Казань).

Статистическую обработку полученного материала проводили с использованием пакетов STATISTICA 6.1 для Windows. Проверку на нормальность распределения количественных показателей проводили с использованием критерия Шапиро – Уилка. Так как не все изучаемые показатели подчинялись нормальному закону распределения, применяли непараметрические методы: описательная статистика изучаемых параметров представлена медианой и межквартильным интервалом (25-го; 75-го перцентилей); сравнение независимых выборок с помощью U-критерия Манна – Уитни для парных признаков. Для проверки статистических гипотез при сравнении независимых выборок применяли непараметрический дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса и медианный тест. В зависимости от поставленных задач в работе применяли корреляционный (ранговая корреляция по Спирмену) и дискриминантный анализ.

Статистический анализ результатов морфологических исследований проводился с использованием программ BioStat, version 2009 for Windows, 5.8.4 (AnalystSoft Inc., США).

Результаты полуколичественного типа и представленные в виде процента полей зрения с соответствующим уровнем аalterации и выраженности воспалительного процесса по отношению к исследованному числу полей в срезе обрабатывались путем сравнения групп, использовали критерий χ^2 -квадрат Пирсона (χ^2), при необходимости вводилась поправка Йетса на непрерывность. Вне зависимости от применяемого критерия различия считали значимыми при $p \leq 0,05$

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Особенности элементного состава желчных камней. В результате анализа получен достаточно большой разброс показателей зольности камней. При сухом озолении зольность конкрементов ($n = 105$), т. е. масса неорганического вещества, составила в среднем $3,41 \% \pm 3,34 \%$ от общей массы камня; от 0,07 до 24,14 %. Значительный разброс показателей выявлен также при анализе количественного элементного состава желчных конкрементов (таблица 1). Как видно из таблицы, наиболее значимым компонентом желчных конкрементов является кальций. Известно также, что этот элемент является основой структуры большинства желчных камней,

который «цементирует» входящие в состав камня органические соединения и тем самым является «скелетом» конкрементов, сопротивляющимся лизису. В связи с этим, при разделении конкрементов на группы по степени их минерализации, основывались на содержании именно этого элемента.

По преимущественному содержанию Ca^{2+} отобранные конкременты были условно разделены на 3 группы: низкоминерализованные (до 20 % от массы зола), среднеминерализованные (20 – 60 %) и высокоминерализованные (60 % и более). При этом в группе низкоминерализованных конкрементов ($n = 42$) содержание Ca^{2+} составило 5,62 (3,71; 10,05), в группе среднеминерализованных ($n = 37$) – 31,44 (26,99; 40,30), высокоминерализованных ($n = 26$) – 88,13 (77,10; 100,09) %.

Таблица 1 – Элементный состав желчных камней Me (27-й; 75-й)

Элемент	Содержание в % от массы зола
B	0,0028 (0,0017; 0,0113)
Ba	0,0033 (0,0015; 0,0135)
Bi	0,0121 (0,0023; 0,0629)
Co	0,0090 (0,0022; 0,0166)
Cr	0,0046 (0,0021; 0,0109)
Ni	0,0094 (0,0070; 0,0137)
P	1,95 (1,21; 3,51)
Pb	0,0269 (0,0172; 0,0507)
Sr	0,0284 (0,0197; 0,0437)
V	0,1318 (0,0246; 0,5316)
Li	0,0198 (0,0104; 0,0323)
Al	0,2116 (0,1389; 0,6442)
Ca	27,64 (6,66; 58,84)
Mg	1,64 (0,95; 3,97)
Fe	0,1674 (0,1018; 0,3990)
K	0,76 (0,53; 1,26)
Na	0,78 (0,40; 1,83)
Si	2,96 (1,83; 4,98)
Ti	0,0496 (0,0254; 0,3253)

Важно, что содержание кальция в камнях не всегда соотносилось с их

макроскопическим описанием. Так, в группе низкоминерализованных камней (n = 42) только 28 (66,7 %) конкрементов подходили под описание холестериновых, 14 (33,3 %) – смешанных. Среднеминерализованные (n = 37) были представлены 12 (32,4 %) – холестериновыми и 25 (67,6 %) смешанными; высокоминерализованные (n = 26) смешанными – 11 (42,3 %), пигментными – 15 (57,7 %).

Выбор оптимального химического состава смеси для растворения желчных камней (литолитиза). Для выявления наиболее эффективного литолитического агента была проведена серия экспериментов *in vitro* (n = 208). В опытах с использованием хенодезоксихолевой кислоты, урсodeзоксихолевой кислоты, Трилона Б, цитрата натрия, гепарина эффекта достигнуто не было, масса конкрементов осталась прежней даже при достаточно длительной экспозиции конкремента в соответствующем реактиве в течение суток при температуре тела человека, независимо от степени минерализации (таблица 2).

Таблица 2 – Литолитическая активность реагентов в отношении желчных камней (M ± SD)

Растворитель	К
Октановая кислота (n = 54)	5,63 ± 2,10
Октанол (n = 35)	8,11 ± 3,40; p < 0,001
Метил-трет-бутиловый эфир (n = 30)	5,92 ± 2,70
Этилпропионат (n = 30)	5,45 ± 2,00
Гепарин (n = 12)	Нет эффекта
Трилон Б (n = 15)	Нет эффекта
Цитрат натрия (n = 12)	Нет эффекта
Хенодезоксихолевая кислота (n = 10)	Нет эффекта
Урсodeзоксихолевая кислота (n = 10)	Нет эффекта
Примечания: К – время растворения конкремента в минутах в пересчете на 1 мг массы камня; n – число экспериментов; p – уровень статистической значимости различий по сравнению с октановой кислотой.	

Наибольшая литолитическая активность обнаружена у октановой кислоты. У октанола она была на 44,1 % ниже по сравнению с его кислотным аналогом.

Октановая кислота уже применяется в медицине: комплекс с каприловой

кислотой используется для нормализации микробиоценоза кишечника, подавления роста дрожжей в желудочно-кишечном и мочеполовом трактах, нормализации работы пищеварительной системы в целом, укрепления иммунной системы и профилактики развития воспалительных заболеваний. Октановая кислота входит в состав плазмозамещающего препарата «человеческий альбумин» в качестве вспомогательного вещества (Тхай С. В., Захаров В. В., Русанов В. М., 2014) и добавляется в смеси для внутризондового питания «Фрезубин» (Simopoulos A. P., Herbert A. P., Jacobson V. B., 1999). Также используется для изготовления противовоспалительных кремов и мазей. Октановая кислота также найдена во многих продуктах питания, что говорит о её безопасности: содержится в виде глицерида в коровьем масле, в молоке (0,53–1,04 %), в кокосовом жире (8 %), найдена в лимбургском сыре, в сивушном масле (в виде изоамилового эфира) и свекловичной патоке. Придает специфический перечный вкус и запах сыру «Рокфорти». В пищевой промышленности октановая кислота применяется в качестве сырья для получения этилкаприлата – синтетического ароматического вещества, используемого для создания пищевых эссенций для ароматизации кондитерских изделий. Каприловая кислота также применяется для лечения некоторых бактериальных инфекций. В организме каприловая кислота быстро распадается при участии кофермента А в печени до CO_2 и воды (Wada H., Shintani D., Ohlrogge J., 1997). Также установлено, что она усиливает абсорбцию кальция и магния и снижает уровень холестерина крови. Кроме того, октановая кислота является продуктом для синтеза α -липоевой кислоты в митохондриях (Марчик Е. И., Самарцев В. Н., 2010). Проведенные ранее исследования выявили, что только в достаточно больших дозах октановая кислота оказывает токсическое воздействие на организм 7–25 г/кг, что по классификации химических веществ по степени воздействия на человека относится к классу «малоопасных» (Лазарев Н. В., 1976).

Преимущества октановой кислоты более проявляются при растворении конкрементов высокой минерализации (таблица 3). Так литолитическая активность метил-трет-бутилового эфира ниже октановой кислоты на 20,0 % ($p < 0,001$), этилпропионата на 5,4 % ($p < 0,001$) при воздействии на камни с большим содержанием кальция. Растворяющая способность октанола в

зависимости от минерализации конкрементов ниже по сравнению с октановой кислотой на 64,1 % ($p < 0,001$), 31,5 % ($p < 0,001$) и 38,5 % ($p < 0,001$) соответственно при литолитизе камней низкой, средней и высокой минерализации.

На следующем этапе для подбора оптимального состава литолитической смеси был проведен ряд экспериментов *in vitro*. В связи с тем, что октановая кислота имеет вязкость при 20 °С – 5,83 сантипуаз (мПа·с) (Иванов А. В., 2002), при температуре тела человека, соответственно, еще меньше, то при использовании *in vivo* данный растворитель будет достаточно быстро эвакуироваться из желчевыводящих путей в просвет двенадцатиперстной кишки. Данное обстоятельство снижает время контакта растворителя с конкрементом и, следовательно, его растворимость, что потребует дополнительного введения октановой кислоты.

Таблица 3 – Литолитическая активность реагентов (К) в зависимости от степени минерализации конкрементов ($M \pm SD$)

Растворитель	Минерализация камней		
	низкая (n = 52)	средняя (n = 45)	высокая (n = 52)
Октановая кислота (n = 54)	4,40 ± 2,04	5,87 ± 1,76	6,70 ± 1,87
Октанол (n = 35)	7,22 ± 3,91 p = 0,027	7,72 ± 2,22 p < 0,001	9,28 ± 3,44 p < 0,001
МТБЭ (n = 30)	4,22 ± 0,95	5,23 ± 2,04	8,04 ± 2,95 p < 0,001
Этилпропионат (n = 30)	4,55 ± 1,14	4,74 ± 1,64	7,06 ± 2,13 p < 0,001
Примечания: n – число экспериментов; p – уровень статистической значимости различий по сравнению с октановой кислотой.			

Наряду с этим, часть эвакуированного растворителя в просвете кишечника будет адсорбироваться в общий кровоток, что также может привести к негативному эффекту. В связи с этим, необходимо в состав литолитической смеси включить реагент, обладающий достаточной вязкостью,

что позволит удерживать более длительную экспозицию растворителя в просвете желчевыводящих путей. При этом реагент должен обладать малой токсичностью и вызывать минимальные побочные эффекты. В качестве подобного реагента был выбран глицерин. Вязкость глицерина при 20 °С составляет 1 480 сантипуаз (мПа·с) (Тиноко И. с соавт., 2005), что в 254 раза превышает вязкость октановой кислоты.

Используя различные соотношения октановой кислоты и глицерина, конкремент заливался соответствующей смесью и в течение нескольких часов, при температуре тела человека, оценивалась эффективность используемой смеси.

На основании многочисленных экспериментов было найдено оптимальное соотношение «октановая кислота : глицерин» – 1 : 1, в данной пропорции скорость растворения конкрементов осталась практически прежней. При увеличении доли глицерина литолитический эффект не наступает. Статистически значимых отличий по литолитической активности между чистой октановой кислотой и разведении её в 1,5 и 2 раза глицерином выявлено не было.

Уменьшение отрицательного действия октановой кислоты при смешивании её с глицерином обусловлено образованием значительного количества водородных связей, возникающих между ОН-группой кислоты и кислородом одного из гидроксильных глицерина, а также между ОН-группой глицерина и кислородом карбоксильной группы кислоты. Эти взаимодействия снижают реакционную способность октаноата и, следовательно, его токсичность (Курц А. Л., Реутов О. А., 2010). Кроме того, уменьшается количество октановой кислоты, требуемой для растворения конкремента, что также снижает общую токсичность лечения.

На следующем этапе *in vitro* были проведены эксперименты по изучению литолитической активности предлагаемой смеси в зависимости от степени минерализации конкрементов. Установлено, что время растворения конкрементов зависело от степени минерализации камней, как и при использовании октановой кислоты (таблица 4).

Таким образом, использование литолитической смеси «октановая кислота : глицерин» в соотношении 1 : 1 позволит увеличить вязкость раствора

и, соответственно, время воздействия растворителя на конкремент без снижения растворяющей способности основного реагента.

Таблица 4 – Литолитическая активность (К) смеси «октановая кислота-глицерин» в соотношении 1 : 1 в зависимости от степени минерализации конкрементов ($M \pm SD$)

Минерализация камней		
низкая (n = 15)	средняя (n = 17)	высокая (n = 17)
$4,26 \pm 1,18$	$6,04 \pm 2,41$ $p < 0,001$	$6,97 \pm 2,36$ $p < 0,001$ $p_1 = 0,037$
Примечание: n – число экспериментов; p – уровень статистической значимости различий по сравнению с низкой минерализацией; p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению со средней минерализацией		

Апробация литолитической смеси при экспериментальном холелитиазе. После начала введения литолитической смеси не отмечено каких-либо изменений в характере поведения кроликов (агрессивность, вялость, потеря аппетита и др.) и общем состоянии (внешний вид, состояние кожных покровов, видимых слизистых оболочек, шерсти, вес). Низкоминерализованные конкременты растворились во всех случаях введения раствора октановой кислоты в глицерине, среднеминерализованные – при введении в течение 3 дней и более, высокоминерализованные – на 4-е сутки лечения. Эффективность контактной литолитической терапии показана в таблице 5. Неполное растворение наблюдалось при попытке интракорпорального литолиза среднеминерализованных конкрементов в 2-х случаях (25 % от всех) после 2-кратного введения препарата. При этом удалось снизить массу конкрементов на 95–97 % от исходной (с 54 мг до 2 мг и с 69 мг до 3 мг соответственно).

При использовании камней высокой минерализации неполное растворение наблюдалось дважды при трёхкратном введении литолитической смеси и дважды при двукратном введении. При этом исходная масса конкрементов при трёхкратном введении составляла 58 и 63 мг до эксперимента, 8 и 4 мг после эксперимента соответственно, масса камней снизилась на 86–97 %. При двукратном введении – 59 и 48 мг при подсадке

камня, 12 и 9 мг по окончании эксперимента – снижение массы на 89–91 %.

Таблица 5 – Эффективность контактной литолитической терапии в зависимости от количества дней введения раствора и степени минерализации конкрементов

Кол-во дней введения	Низко-минерализованные n = 9	Средне-минерализованные n = 10	Высоко-минерализованные n = 16
2 (n = 6)	+	±	±
3 (n = 8)	+	+	±
4 (n = 8)	+	+	+
5 (n = 8)	+	+	+
Контроль (без введения растворителя) n = 5	□	□	□
Примечания: + – конкремента после лечения не обнаружено; □ – конкремент без существенных изменений; ± – неполное растворение конкремента			

Таким образом, в результате эксперимента *in vivo* нами был получен полный литолиз 80 % конкрементов, оставшиеся 20 % подверглись неполному литолизу вследствие высокого содержания кальция в структуре камней и/или недостаточной экспозиции растворителя. Для полного растворения указанных конкрементов, вероятно, необходимо более длительное воздействие литолитической смеси.

При анализе биохимических показателей на фоне введения литолитической смеси исследуемые параметры остались в пределах нормы, хотя выявлено незначительное повышение уровня билирубина на 5,7 % ($p = 0,011$), возрастание активности амилазы на 7,0 % ($p = 0,042$), АсАт на 55,3 % ($p = 0,037$), АлАт – на 12,1 % ($p = 0,035$), содержание мочевины и креатинина оставалось прежним. При этом в группе кроликов с моделированием желчнокаменной болезни без использования литолитической смеси произошли более выраженные изменения биохимических показателей на фоне наличия конкремента в желчном пузыре. Концентрация билирубина повысилась на 11,8 % ($p < 0,001$) на фоне роста активности амилазы на 74,1 % ($p < 0,001$), АсАт на 184,5 % ($p < 0,001$), АлАт на 142,0 % ($p < 0,001$). Также, в

отличие от основной группы, увеличились значения мочевины на 14,9 % ($p < 0,001$) и креатинина на 32,0 % ($p < 0,001$). При этом имелись отличия по показателям в конце лечения между группами по цифрам аминотрансфераз: при литолизе активность АсАт была ниже на 28,5 % ($p = 0,043$), чем в группе без литолиза, АлАт – на 17,3 % ($p = 0,021$). Кроме того, были обнаружены различия по уровню креатинина на период выведения из опыта: в группе кроликов с введением камнерастворяющей смеси этот параметр был ниже на 14,6 % ($p_1 = 0,039$).

Вышеприведенные данные свидетельствуют о минимальном влиянии предлагаемой смеси на функцию печени, почек и поджелудочной железы. Наблюдаемые сдвиги биохимических показателей обусловлены операционной травмой, что подтверждается наличием более выраженных изменений в группе кроликов без введения литолитической смеси. Данный факт, по всей вероятности, обусловлен развитием воспалительного процесса в желчном пузыре и желчевыводящих путях на фоне подсадки конкремента.

При гистологическом исследовании во всех случаях с использованием контактного литолиза в желчном пузыре отмечались стереотипные изменения в виде незначительного и умеренно выраженного острого экссудативного воспаления и умеренные дистрофические изменения покровного эпителия. В мышечной оболочке пузыря не отмечалось значимых изменений, лишь на серозной оболочке фиксировались изменения, отражающие послеоперационный спаечный процесс. Гистоархитектоника всех исследованных органов (желудка, тонкой кишки, почек) была сохранена, их ткани и клетки не имели существенных патологических изменений. Только в паренхиме печени отмечались явления обратимой белковой дистрофии части гепатоцитов.

На представленный метод получен патент на изобретение «Способ лечения желчнокаменной болезни в эксперименте» № 2535150 от 09.01.2013 г.

В клинике контактный литолиз можно использовать при высоком риске оперативного лечения острого калькулезного холецистита, у пациентов пожилого и старческого возраста с тяжелой сопутствующей патологией сердечно-сосудистой и дыхательной систем, без деструктивных изменений стенки желчного пузыря. Возможно наложение микрохолецистостомы под

ультразвуковым наведением либо под лапароскопическим контролем, промывание просвета желчного пузыря, купирование острого воспалительного процесса, с последующим введением растворителя и контролем за растворимостью камней при помощи УЗ исследования либо используя фистулохолангиографию. Учитывая то, что лечение желчнокаменной болезни в этом случае не радикальное, требуется в последующем длительный прием препаратов желчных кислот для профилактики рецидивов.

При холедохолитиазе, особенно при резидуальных камнях общего желчного протока при стремлении к сохранению сфинктерного аппарата фатерова сосочка, возможно введение литолитической смеси через гепатикохоледохостому, установленную чрескожно, чреспеченочно под УЗ наведением, либо через назобилиарный дренаж, установленный эндоскопически через фатеров сосок. Ситуация упрощается, если резидуальный камень обнаружен в раннем послеоперационном периоде, когда сохранена наружная холедохостома. В таком случае введение литолитической смеси возможно через имеющийся дренаж ductus choledochus. Контроль над растворением конкрементов также можно осуществлять при помощи фистулохолангиографии либо ЭРПХГ.

Разработка ультразвукового литотриптора. Основная проблема заключается в особенностях распространения ультразвуковых волн, что делает невозможным изготовление гибкого волновода и проблематичным создание длинного изогнутого волновода небольшого диаметра ввиду потерь мощности ультразвука на изгибах и несоответствия поперечных и продольных колебаний при создании инструментов с изогнутой осью.

Основа предлагаемого литотриптора заключается в создании специального изогнутого волновода, который во время лапароскопической операции, после выполнения холедохотомии, учитывая анатомическое расположение желчевыводящих путей, можно ввести в просвет общего желчного протока и выполнить контактную литотрипсию. Был создан волновод (рисунок 2) длиной 400 мм, состоящий из нерабочей проксимальной части длиной 335 мм, диаметром 6 мм, изогнутой относительно продольной оси на 40°, промежуточной части в виде усеченного конуса и дистальной рабочей части длиной 60 мм, диаметром 4 мм.

Дистальный конец волновода выполнен в виде вогнутой сферической поверхности глубиной 1 мм. Волновод изготовлен из нержавеющей стали, что позволяет производить его стерилизацию. При помощи резьбового соединения волновод соединяется с ультразвуковым преобразователем, на который поступает сигнал от генератора ультразвуковых колебаний.

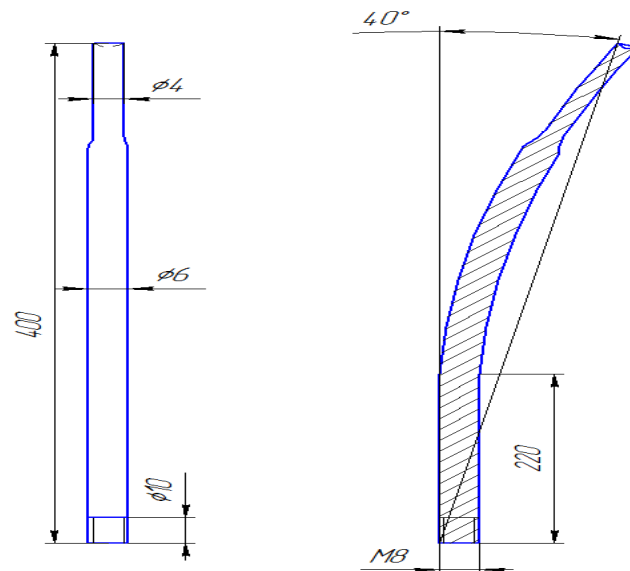


Рисунок 2 – Волновод для контактной литотрипсии оригинальной конструкции

Ультразвуковой генератор «ИЛ10-840» производства «Ультразвуковая техника-ИНЛАБ» (г. Санкт-Петербург) предназначен для преобразования тока промышленной частоты (50 Гц) в ток с частотой в диапазоне 17–30 кГц и служит источником питания ультразвукового преобразователя магнитострикционного типа.

Имеет достаточно удобный интерфейс, возможность регулировки частоты и мощности, таймер, возможность записи выбранных параметров. Включение генератора осуществляется нажатием кнопки (1) (рисунок 3).

Выбор пунктов настройки производится вращением ручки (2) и нажатием кнопки (3 или 2), после чего вращением ручки (2) выбирают нужный параметр частоты или мощности, закрепляя его нажатием кнопки (2 или 3). Нажатием кнопки (4) можно обнулить установленные настройки. На дисплее генератора указывается мощность в ваттах на выходе генератора в процентах от максимальной (5), частота в герцах (6), имеется кнопка «пуск» (7),

активируемая нажатием кнопки (2 или 3). Также имеется таймер, показывающий время воздействия в секундах (8) и возможность записи выбранных параметров (9), активируемая при нажатии на кнопку (2 или 3).



Рисунок 3 – Ультразвуковой генератор

Ультразвуковой преобразователь (рисунок 4) имеет ручку (2) и гнездо (1) для подсоединения волновода.

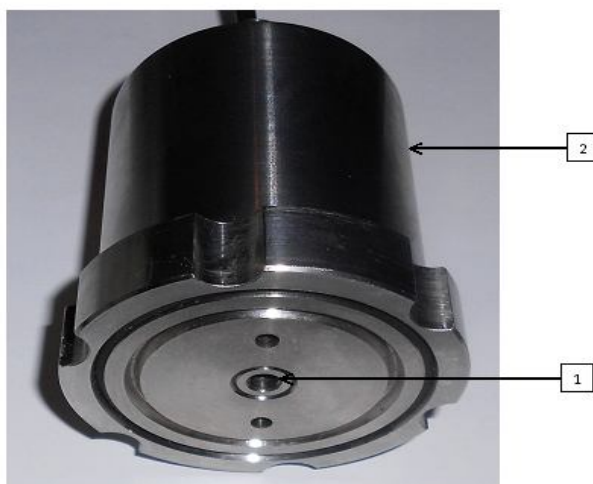


Рисунок 4 – Ультразвуковой преобразователь

Непосредственно на самом волноводе (рисунок 5) имеются нерабочая проксимальная часть (1), рабочая дистальная часть (2), промежуточная часть, в виде конуса (3), резьба для соединения с ультразвуковым преобразователем (5), торец волновода выполнен в виде вогнутой сферической поверхности (4).

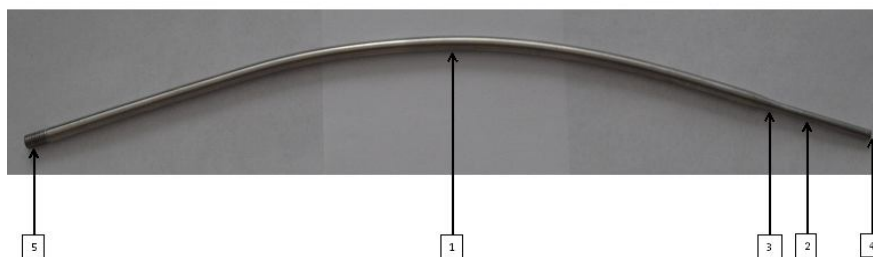


Рисунок 5 – Волновод

На предлагаемый волновод получен патент на изобретение № 2556519 от 19.08.2013 г.

Оптимизация условий ультразвуковой контактной литотрипсии. На начальном этапе экспериментов выяснилось, что при сочетании воздействия октановой кислоты и ультразвука частотой 0,88 мГц и интенсивностью 1,0 Вт/см² разрушение конкрементов происходит намного быстрее, чем при воздействии только октановой кислоты. Так время растворения конкремента в минутах в пересчете на 1 мг массы камня с использованием ультразвукового воздействия составило 3,16 (2,61; 4,29) против 5,55 (4,00; 6,74) октановой кислоты ($p < 0,001$), т.е. процесс литолиза происходит быстрее почти в два раза.

Один ультразвук частотой 0,88 мГц и интенсивностью 1,0 Вт/см² в среде желчи и в среде физиологического раствора не вызывал изменений массы и размеров камней даже при продолжительном времени воздействия.

Следующая серия экспериментов проводилась с использованием созданного ультразвукового комплекса. Экспериментально установлено, что наиболее оптимальные параметры для выполнения литотрипсии: выходная мощность генератора 35 %, от 40 до 65 Вт, частота 26 500–26 700 Гц. При значительном отклонении частоты на 200 Гц и более дробления конкрементов не происходит. При снижении мощности воздействия возрастало время трипсии камня. При повышении мощности система выходила из резонанса, происходил нагрев волновода и дробления конкремента не удавалось достигнуть. Во время выполнения литотрипсии время дробления конкрементов не менялось при расстоянии от торца волновода до камня от 0 до 0,5 см.

Время выполнения литотрипсии зависит от состава конкремента (таблица 6). Более минерализованные, пигментные конкременты

фрагментируются быстрее, чем холестериновые, средне- и низкоминерализованные камни. Установлено, что К в группе камней массой более 300 мг (ориентировочно более 1 см в диаметре) ниже на 81,8 % ($p < 0,001$), чем при дроблении мелких камней, хотя общее время, затрачиваемое на трипсию этих конкрементов, больше.

По-видимому, это связано с накоплением напряжения в массе камня в течение ультразвукового воздействия, что в конечном итоге ведет к снижению коэффициента. При этом, в группе крупных конкрементов соотношение времени трипсии по степени минерализации камней сохранилось прежнее: продолжительность ультразвукового воздействия обратно пропорционально зависело от степени минерализации конкремента.

Таблица 6 – Время литотрипсии (К) в зависимости от степени минерализации камня в пересчете на 1 мг (К) Ме (25-й; 75-й)

Низкоминерализованные n = 18	Среднеминерализованные n = 26	Высокоминерализованные n = 24
2,61 (2,17; 2,82)	1,88 (1,56; 2,72) $p = 0,031$	1,01 (0,83; 1,28) $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Примечания: n – число экспериментов; К – время трипсии конкремента в секундах до мелких фрагментов ($d \approx 0,5$ мм) в пересчете на 1 мг массы камня; p – уровень статистической значимости различий по сравнению с группой конкрементов низкой минерализации; p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с группой конкрементов средней минерализации.		

Для изучения синергического влияния ультразвука предлагаемой частоты и литолитических препаратов был проведен ряд экспериментов по озвучиванию конкрементов в среде октановой кислоты и смеси «октановая кислота-глицерин» в соотношении 1 : 1. При этом выявлено значительное сокращение времени разрушения камней при сочетании воздействия УЗ и октановой кислоты на 31,0 % ($p = 0,019$), при сочетании с литолической смесью «октановая кислота-глицерин» также на 31,0 % ($p = 0,029$). При сравнении с группой конкрементов массой менее 300 мг данные отличия еще более выражены: разрушение камней УЗ в среде

октановой кислоты и смеси «октановая кислота-глицерин» происходит быстрее на 57,2 % ($p < 0,001$). Обращает на себя внимание более быстрое разрушение в этих условиях камней средней минерализации, которые представлены в основном конкрементами смешанного строения и встречаются наиболее часто.

Экспериментальная оценка влияния ультразвука на состояние окружающих тканей при литотрипсии *in vivo*. Озвучивание просвета желчного пузыря кролика производили в течение 4 минут. Такая продолжительность воздействия была нами использована при литотрипсии *in vitro* достаточно крупных конкрементов. Во всех случаях в полости желчного пузыря обнаружены остатки конкремента в виде мелких фрагментов размерами до 0,5 мм. Интраоперационно, сразу после озвучивания макроскопически отмечалось некоторое изменение цвета тканей органов: желчного пузыря, печени, тонкой кишки (они приобретали более светлые тона, появлялся серый оттенок), снижался блеск брюшины, слизистой желчного пузыря и капсулы печени. Размер измененной зоны четко соответствовал диаметру излучателя; причем степень выраженности указанных изменений отличалась слабо, в зависимости от экспозиции.

При гистологическом исследовании паренхимы печени, озвученной через слой жидкости с расстояния 0,5 см, на 3-и сутки после операции гистоархитектоника органа сохранена, без значимых особенностей – основной массив гепатоцитов обычных форм и размеров; сохраняется балочное строение; капсула органа нормальной толщины, без патологических наложений. При исследовании фрагментов тонкого отдела кишечника после воздействия ультразвуком на расстоянии 0,5 см, на серозной оболочке наложение незначительного количества нитей фибрина и единичных сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов, т. е. отмечены явления очагового серозного перитонита. В ряде случаев аналогичные изменения были обнаружены на серозе сегментов кишечника, не подвергавшихся УЗ воздействию. Субсерозное пространство, мышечные оболочки и слизистая пластинка кишки оставались интактны – нарушения микроциркуляции и воспалительные изменения зафиксированы не были.

Степень выраженности и очаговый характер воспалительных изменений брюшины типичен для постоперационных состояний, и, в частности,

объясняется 3-ми сутками от момента выполнения экспериментальной лапаротомии.

При контактном озвучивании динамика репаративных процессов по срокам показана в таблице 7.

Таблица 7 – Динамика репаративных процессов по срокам после УЗ контактного озвучивания ($M \pm SD$)

Сутки после операции	Кол-во животных, шт.	Диаметр зоны некроза, мм			Глубина зоны некроза, мм		
		печень	желчный пузырь	кишечник	печень	желчный пузырь	кишечник
3-и	3	3,97 ±0,10	2,10±0,09	3,00±0,15	1,97±0,13	0,23±0,05	0,57±0,05
5-е	4	4,03±0,30	0,73±0,09 p<0,001	1,00±0,07 p<0,001	1,83±0,15 p=0,035	0,09±0,01 p<0,001	0,09±0,01 p<0,001
7-е	7	2,67±0,36 p<0,001 p ₁ <0,001	0,44±0,07 p<0,001 p ₁ =0,002	0,09±0,06 p<0,001 p ₁ <0,001	1,09±0,07 p<0,001 p ₁ <0,001	0,06±0,02 p<0,001 p ₁ =0,004	0,02±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001
14-е	6	0,00±0,00 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,00±0,00 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,00±0,00 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,00±0,00 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,00±0,00 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,00±0,00 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с 3-ми сутками после операции; p ₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению с 5-ми сутками после операции; p ₂ – уровень статистической значимости различий по сравнению с 7-ми сутками после операции.							

Так, на 3 –5-е сутки после операции в месте озвучивания выявлялась зона некроза в паренхиме печени по форме, соответствовавшей полусфере, обращенной основанием к капсуле органа, в стенке желчного пузыря и кишки – в форме двояковыпуклой линзы серого цвета с достаточно четкими границами. При микроскопическом исследовании обнаружена зона коагуляционного некроза с очень четкой границей со здоровыми тканями. Некротические массы бесструктурные, достаточно гомогенные, со слабой тропностью к гистологическим красителям. В паренхиме печени зона некроза локализовалась субкапсулярно, причем капсула над данной зоной была цела, без значимых особенностей, но с минимальными наложениями нежных нитей фибрина.

В стенке кишки «некротическая линза» локализовалась субсерозно, преимущественно в мышечной оболочке; на десерозированной адвентиции – фибриновые массы и единичные лейкоциты. В стенке желчного пузыря некротические массы обнаруживались в субслизистом пространстве; слизистая над зоной воздействия с участками десквамации с выраженными регенераторными изменениями сохранившегося эпителия.

Характерной особенностью течения регенераторного процесса в исследованных тканях явилась ограниченность деструктивных изменений, с очень узкой, практически отсутствовавшей перифокальной зоной паранекроза, сокращением массива некротических масс не путем их отторжения, а путем резорбции и лизиса макрофагальными элементами и замещения на начавшую формироваться грануляционную ткань в условиях достаточно слабо выраженного воспаления. На 7-е сутки помимо значительного сокращения объема некротического детрита полностью исчезла зона некробиоза, в полых органах четко типировалась молодая грануляционная ткань, обнаруживался частично восстановленный эпителий слизистой желчного пузыря, очищение серозной оболочки кишечной трубки. Также отмечалось увеличение количества фибробластов и фиброцитов. Репарационные процессы в подслизистой основе желчного пузыря и мышечно-субсерозной зоны кишечной трубки носили характер субституции – дифференцировались процессы образования соединительнотканного рубца. В паренхиме печени аналогичные процессы выявлены не были.

На 14-е сутки зона некроза не определялась в исследованных тканях. В слизистой оболочке желчного пузыря имело место полное восстановление структуры тканевых компонентов; лишь в подслизистой зоне отмечалось очаговое разрастание соединительной ткани (наличие рубца), неравномерный лимфоцитарно-плазматический инфильтрат, а регенерировавший призматический эпителий характеризовался снижением высоты эпителиоцитов.

Таким образом, во всех случаях использования ультразвуковой контактной литотрипсии в желчном пузыре отмечались типовые изменения в его стенке, обусловленные собственно оперативным вмешательством. Контактное озвучивание тканей вело к формированию зон коагуляционного некроза размерами, равными пятну контакта рабочего торца волновода,

глубиной, не превышающей $\frac{1}{2}$ его диаметра, и очень узкой зоной паранекроза. Репаративные процессы характеризовались сокращением некротических масс, преимущественно, путем резорбции и лизиса макрофагальными элементами, т. е. без эффекта отторжения мертвых тканей, и умеренно выраженным продуктивным воспалением. Озвучивание тканей через слой жидкости не сопровождалось альтернационными изменениями.

Статистический анализ частот встречаемости и выраженности морфологических критериев повреждения тканей демонстрирует практически полное купирование воспалительных процессов к 7-м суткам эксперимента, а в более поздние сроки – восстановление структуры тканей и органов до уровня сопоставимых с показателями нормы.

Апробация возможности использования контактной ультразвуковой литотрипсии при холедохолитиазе. Используя контактную ультразвуковую литотрипсию в просвете общего желчного протока с помощью предлагаемого литотриптора, ставилась цель уменьшить травматичность вмешательства и вместе с тем, избежать выполнения сфинктероразрушающих операций. На этапе освоения методики через лапаротомный доступ контактная ультразвуковая литотрипсия выполнена у трех пациентов с вколоченными камнями в терминальном отделе ductus choledochus, при лапароскопических операциях у 7 больных. При эндоскопических операциях после идентификации общего желчного протока, при сохраненном желчном пузыре, производилось надсечение пузырного протока, используя желчный пузырь как держалку. Далее выполняли баллонную дилатацию пузырного протока катетером Фогарти до 5–6 мм в диаметре. При отсутствии желчного пузыря (холецистэктомия в анамнезе) – 1 пациент, или при анатомических аномалиях пузырного протока (длинный пузырный проток, впадающий в общий желчный ретродуоденально) – 1 пациентка, а также при невозможности выполнить достаточную дилатацию (1 больная) выполняли супрадуоденальную холедохотомию. Проводилась фиброхоледохоскопия через пузырный проток (в 4-х случаях) или через холедохотомическое отверстие (в 3-х случаях) для подтверждения наличия камней в протоке и уточнения их количества и локализации. Через прокол в передней брюшной стенке, учитывая наиболее оптимальный угол введения волновода в проток и локализацию конкрементов, чаще в правом подреберье

между передней подмышечной и среднеключичной линиями по краю реберной дуги вводили волновод, подключенный к ультразвуковому преобразователю. Далее через дилатированный пузырьный проток или через холедохотомическое отверстие рабочую часть волновода вводили в просвет общего желчного протока дистально до упора в камень, учитывая локализацию конкрементов, выявленных при холедохоскопии. Производили озвучивание просвета общего желчного протока в режиме 26 500–26 700 Гц, мощность 35 % – 40–65 Вт в течение 2–3 мин. После чего рабочую часть волновода извлекали из просвета протока, отмывали последний от фрагментов камней физиологическим раствором через ПХВ трубку до чистых вод и проводили контрольную холедохоскопию.

При положительном результате – отсутствие видимых препятствий и осколков конкрементов в дистальном и проксимальном направлениях, прохождении холедохоскопа в двенадцатиперстную кишку, производили дренирование общего желчного протока или через культю пузырьного протока по Холстеду – Пиковскому – в 4 случаях (при открытых операциях в 2 случаях), или через холедохотомическое отверстие по Вишневскому – в 3-х случаях (при открытых операциях в 1 случае). При отрицательном результате – наличие препятствия или крупных осколков в просвете протока, процедуру повторяли, что потребовалось у 4-х пациентов (при открытых операциях у 2-х больных). Продолжительность операций при лапароскопическом доступе составила $75,1 \text{ мин} \pm 13,1 \text{ мин}$.

В послеоперационном периоде по холедохостоме отделялась желчь в объеме от 400 до 600 мл, постепенно отделяемое уменьшалось. Через семь суток начинали тренировку дренажа, пережимая его на все более продолжительное время. Пациентов выписывали под наблюдение с холедохостомой на 5–7-е сутки после операции. На 7–10-е сутки выполняли фистулографию: во всех случаях общий желчный проток проходим, умеренно расширен, дефектов наполнения в нем не определялось. Холедохостому удаляли на 14–15-е сутки после операции.

Через шесть месяцев удалось осмотреть четверых больных (после лапаротомных операций 2-х пациентов), что составило 40 % от общего числа пациентов, которым была выполнена контактная ультразвуковая литотрипсия по разработанной нами методике. Обнаружено следующее: жалоб не

предъявляли, биохимические показатели в пределах нормы, по УЗИ умеренное расширение общего желчного протока до 0,7–0,9 см в диаметре, признаков резидуального холедохолитиаза, рубцового стеноза внепеченочных желчных протоков не выявлено.

Таким образом, выполнение контактной ультразвуковой литотрипсии в просвете общего желчного протока при лапароскопических операциях намного упрощает санацию ductus choledochus, особенно при вколоченных камнях в терминальном отделе протока. Предлагаемая конструкция волновода позволяет заводить его под определенным углом в общий желчный проток через дилатированную культю пузырного протока или холедохотомическое отверстие. Описываемая операция дает возможность избежать сфинктероразрушающих вмешательств, а в отдельных случаях и выполнения лапаротомии, что, безусловно, сказывается на послеоперационном течении и исходе заболевания.

Обобщая материалы диссертационного исследования, можно констатировать, что использование предлагаемых малотравматичных способов устранения конкрементов в желчевыводящих путях должно быть использовано в клинике, учитывая малоинвазивность их применения. Это позволит снизить количество лапаротомных и сфинктероразрушающих операций, а также необоснованного расширения объема вмешательства при высоком операционном риске.

ВЫВОДЫ

1. Атомно-эмиссионный спектральный анализ является информативным методом изучения элементного состава и прочности желчных конкрементов.

2. Установлено, что прочность (устойчивость к литолизу и литотрипсии) желчных конкрементов различного химического состава определяется содержанием кальция; при этом выделено три класса конкрементов: 1) низкоминерализованные (содержание Ca^{2+} до 20 % от массы зольного остатка); 2) средней минерализации (Ca^{2+} от 20 до 60 %); 3) высокоминерализованные (содержание Ca^{2+} более 60 %).

3. Оптимальной рецептурой для химического литолиза является смесь октановой кислоты и глицерина в соотношении 1 : 1. В отличие от ранее использовавшихся растворителей желчных камней октановая кислота обладает

более высокой литолитической активностью, особенно при высокой степени минерализации конкрементов: в сравнении с октанолом на 64,1 %, метил-трет-бутиловый эфир на 20,0 %, этилпропионатом на 5,4 %. Контактного лизирующего эффекта не выявлено при воздействии хенодезоксихолевой кислоты, урсodeзоксихолевой кислоты, Трилона Б, цитрата натрия, гепарина.

4. Однократное ежесуточное введение литолитической смеси «октановая кислота-глицерин» в дозировке 0,2 мл/кг массы животного обеспечивает полный литолиз желчных камней в течение 4-х суток на экспериментальной модели холецистолитиаза. При этом не обнаружено гепато-, нефротоксического и ulcerогенного действия вводимой смеси.

5. Оптимальными параметрами ультразвука для выполнения контактной литотрипсии являются: частота 26 500–25 700 Гц, выходная мощность генератора 35 %, от 40 до 65 Вт.

6. При ультразвуковом воздействии с заданными параметрами, с использованием предлагаемого волновода на окружающие органы и ткани (желчный пузырь, печень, тонкий кишечник, общий желчный проток) регистрируются обратимые морфологические изменения, которые полностью нивелируются в течение 2-х недель после озвучивания.

7. Озвучивание ультразвуком желчных конкрементов в среде литолитической смеси «октановая кислота-глицерин» позволяет сократить время их разрушения в 1,5 раза. Более быстрому разрушению подвержены камни средней минерализации, представленные, в основном, конкрементами смешанного строения.

8. Разработанное устройство для контактной ультразвуковой интракорпоральной литотрипсии, состоящее из ультразвукового генератора, магнитострикционного преобразователя и волновода оригинальной конструкции может быть использовано для дробления желчных камней в условиях открытых и лапароскопических вмешательств.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Метод атомно-эмиссионного спектрального анализа рекомендуется для изучения элементного состава желчных конкрементов в экспериментальных и клинических исследованиях, а также для прогнозирования времени разрушения камня при физических и химических

воздействиях на основе определения содержания кальция в зольном остатке.

2. Литолитическую смесь, состоящую из октановой кислоты и глицерина в соотношении 1 : 1, следует рекомендовать для проведения расширенных клинических испытаний в лечении холелитиаза. Дозировкой достаточной для литолиза следует считать 0,2 мл/кг массы больного для однократного ежесуточного эндобилиарного введения.

3. При вколоченных камнях терминального отдела общего желчного протока с целью сохранения сфинктерного аппарата большого сосочка двенадцатиперстной кишки и снижения травматичности оперативного вмешательства может быть целесообразным использование контактной ультразвуковой литотрипсии при лапароскопическом доступе через дилатированную культю пузырного протока или холедохотомическое отверстие. При этом особенностью использования литотриптора является необходимость дополнительного прокола передней брюшной стенки для введения волновода. При открытых операциях контактная литотрипсия показана при невозможности удаления вклиненного камня терминального отдела общего желчного протока.

4. При использовании контактной ультразвуковой литотрипсии рекомендуется использовать следующие параметры ультразвука: частота 26 500–26 700 Гц, выходная мощность генератора 35 %, от 40 до 65 Вт.

5. Рекомендуется для разрушения камней в общем желчном протоке использовать волновод длиной 400 мм, имеющий изогнутую конфигурацию под углом 40° между направлением оси в основании проксимальной части и дистальным концом рабочей части, при этом проксимальная часть волновода изогнута по радиусу, имеет диаметр 6 мм и конусовидно переходит в рабочую дистальную часть диаметром 4 мм и длиной 60 мм. Дистальный конец волновода выполнен в виде вогнутой сферической поверхности глубиной 1 мм.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лобанов, С. Л. Показатели перекисного окисления липидов и легочной вентиляции после лапароскопической холецистэктомии у больных с сопутствующей патологией / С. Л. Лобанов, Е. В. Размахнин // *Эндоскопическая хирургия*. – 2004. – № 3. – С. 26–29.

2. Размахнин, Е. В. Перекисное окисление липидов и антирадикальная

защита у больных после эндохирургического лечения желчнокаменной болезни / **Е. В. Размахнин**, Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов // **Клиническая лабораторная диагностика.** – 2009. – № 1. – С. 5–7.

3. **Размахнин, Е. В.** Контактный литолиз желчных конкрементов в эксперименте / **Е. В. Размахнин**, Б.С. Хышиктуев, В.А. Кичигина // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2011. – Т. IV, № 4 – С. 808–809.

4. **Размахнин, Е. В.** Возможности атомно-эмиссионного анализа при исследовании состава желчных камней / **Е. В. Размахнин**, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова // **Вестник Бурятского государственного университета.** – 2013. – № 12. – С. 133–137.

5. Применение контактного литолиза в эксперименте / **Е. В. Размахнин**, Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова, В. А. Кичигина // **Анналы хирургической гепатологии.** – 2013. – Т. 18, № 4. – С. 133–137.

6. **Размахнин, Е. В.** Возможности контактного литолиза в лечении желчнокаменной болезни / **Е. В. Размахнин**, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова // **Бюллетень сибирской медицины.** – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 110–115.

7. **Размахнин, Е. В.** Литолитическая терапия в лечении желчнокаменной болезни / **Е. В. Размахнин**, Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов // **Врач-аспирант.** – 2014. – № 1.4 (62). – С. 474-479.

8. Контактная литотрипсия в лечении желчнокаменной болезни / **Е. В. Размахнин**, Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова // **Врач-аспирант.** – 2014. – № 2 (63). – С. 19–24.

9. **Размахнин, Е. В.** Растворяющая способность реагентов при использовании контактного литолиза желчных камней / **Е. В. Размахнин**, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова // **Забайкальский медицинский вестник.** – 2014. – № 2. – С. 48–54. – Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv> (10.06.2011).

10. **Размахнин, Е. В.** Контактная ультразвуковая литотрипсия в просвете общего желчного протока / **Е. В. Размахнин**, С. Л. Лобанов, Б. С. Хышиктуев // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2014. – Т. VII, № 2. – С. 159–164.

11. **Размахнин, Е. В.** Литолитическая терапия при лечении холелитиаза /

Е. В. Размахнин, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 2 (96). – С. 116–119.

12. **Размахнин, Е. В.** Ультразвуковая литотрипсия при холелитиазе / **Е. В. Размахнин, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова // Забайкальский медицинский вестник (электронный журнал).** – 2014. – № 3. – С. 6–11. Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv> (10.09.2014).

13. Атомно-эмиссионный анализ при исследовании состава желчных камней / **Е. В. Размахнин, Б. С. Хышиктуев, В. А. Кичигина, Б. Б. Намдаков // Клиническая лабораторная диагностика.** – 2014. – № 4. – С. 11–14.

14. **Размахнин, Е. В.** Контактная литотрипсия в лечении холедохолитиаза / **Е. В. Размахнин, Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова.** – 2014. – № 7. – С. 34–37.

15. **Размахнин, Е. В.** Контактная литотрипсия в лечении острого холецистита / **Е. В. Размахнин, С. Л. Лобанов, Б. С. Хышиктуев // Медицина и образование в Сибири (электронный журнал).** – 2014. – № 4. – Режим доступа: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1525.

16. **Размахнин, Е. В.** Литолиз желчных конкрементов в экспериментах in vitro и in vivo / **Е. В. Размахнин, Б. С. Хышиктуев, Т. А. Орлова // Медицина и образование в Сибири (электронный журнал).** – 2014. – № 4. – Режим доступа : http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1526

17. **Размахнин, Е. В.** Октановая кислота в лечении желчнокаменной болезни / **Е. В. Размахнин, О. Г. Коновалова // Сибирское медицинское обозрение.** – 2014. – № 4. – С. 36–40.

18. **Размахнин, Е. В.** Внутрипротоковая ультразвуковая литотрипсия при лапароскопическом лечении холедохолитиаза / **Е. В. Размахнин, С. Л. Лобанов, Б. С. Хышиктуев // Эндоскопическая хирургия.** – 2014. – № 5. – С. 21–23.

19. Контактное растворение желчных камней в эксперименте / **Е. В. Размахнин, Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова, В. А. Кичигина // Вестник новых медицинских технологий.** – 2014. – № 4. – С. 30–34.

20. **Размахнин, Е. В.** Особенности минерального состава желчных конкрементов при изучении спектров испускания свободных атомов и ионов в

газовой среде / **Е. В. Размахнин**, О. Г. Коновалова // **Забайкальский медицинский вестник**. – 2015. – № 2. – 155–161. Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv> (29.06.2015).

21. **Пат. 2535150** С2 Российская Федерация, МПК⁵¹ А61К31/185. Способ лечения желчнокаменной болезни в эксперименте / **Е. В. Размахнин**, Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов, В. А. Кичигина, А. В. Сепп; Читинская государственная медицинская академия. – № 2013100450/15; заявл. 09.01.2013; опубл. 20.12.2014. – Бюл. 34. – 10 с.

22. **Пат. 2556519** С2 Российская Федерация, МПК⁵¹ А61В17/225. Волновод для контактной ультразвуковой литотрипсии в просвете общего желчного протока / **Е. В. Размахнин**, Н. В. Лашук, Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов, А. В. Сепп; Читинская государственная медицинская академия. – № 201313854545 /14; заявл. 19.08.2013; опубл. 27.02.2015. – Бюл. 19 – 9 с.

23. **Размахнин, Е. В.** Использование медикаментозного литолиза для лечения желчнокаменной болезни / **Е. В. Размахнин** // **Забайкальский медицинский вестник**. – 2010. – № 1. – С. 56–61.

24. **Размахнин, Е. В.** Контактная ультразвуковая литотрипсия при холедохолитиазе / **Е. В. Размахнин** // Российская научно-практическая конференция, посвященная 20-летию Читинского городского центра эндохирургии : материалы // **Забайкальский медицинский журнал**. – 2015. – № 2. – С. 71–72.

25. Эндохирургия желчнокаменной болезни (ошибки и осложнения) / С. Л. Лобанов, Л. С. Лобанов, Ф. Р. Чепцов, А. Г. Ушаков, **Е. В. Размахнин**, О. Г. Коновалова / Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины : материалы Всерос. науч. практ. конф., посвященной 50-летию Читинской государственной медицинской академии. – Чита, 2003. – С. 91–92.

26. **Размахнин, Е. В.** Перекисный статус и респираторные показатели после лапароскопической холецистэктомии при наличии сопутствующей патологии / **Е. В. Размахнин**, С. Л. Лобанов, А. Б. Ивачев // Эндоскопические технологии в неотложной и плановой хирургии : мат. Рос. науч.-практ. конф. и пленума правления Рос. общества эндоскопических хирургов // Омский научный вестник. – 2005. – № 2 (30), приложение. – С. 96–98.

27. Резидуальный холедохолитиаз: причины, диагностика, лечение /

Е. В. Размахнин, С. Л. Лобанов, О. Г. Коновалова, Е. С. Кулькова // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины : материалы Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 55-летию Читинской государственной медицинской академии. – Чита, 2008. – С. 344.

28. **Размахнин, Е. В.** Литолитическая активность некоторых препаратов в отношении желчных камней в эксперименте / **Е. В. Размахнин,** С. Л. Лобанов // Актуальные проблемы хирургической гепатологии : тезисы докладов междунар. конгр. хирургов-гепатологов стран СНГ, 15-17 сентября 2010. – Уфа, 2010 – С. 96–97.

29. **Размахнин, Е. В.** Контактная литотрипсия при лапароскопическом лечении холедохолитиаза / **Е. В. Размахнин,** Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов // XVII съезд Российского общества эндоскопических хирургов : тезисы докладов // Эндоскопическая хирургия. – 2014. – № 1. – С. 330–332.

30. **Размахнин, Е. В.** Литолитическая активность реагентов при использовании контактного литолиза / **Е. В. Размахнин,** О. Г. Коновалова // XVII съезд Российского общества эндоскопических хирургов : тезисы докладов // Эндоскопическая хирургия – 2014. – № 1. – С. 330.

31. **Размахнин, Е. В.** Контактная ультразвуковая литотрипсия при калькулезном холецистите / **Е. В. Размахнин,** Б. С. Хышиктуев, С. Л. Лобанов // Проблемы медицины в современных условиях : сборник науч. тр. по итогам междунар. науч.-практ. конф. – Казань, 2014. – С. 317–319.

32. **Размахнин, Е. В.** Внутрипротоковая литотрипсия при холедохолитиазе / **Е. В. Размахнин,** О. Г. Коновалова // Третья межд. конф. по биологическим и медицинским наукам : материалы. – Австрия, Вена, 2014. – С. 107–111.

33. **Размахнин, Е. В.** Течение послеоперационного периода при лапароскопических операциях / **Е. В. Размахнин,** С. Л. Лобанов, Н. В. Носков // Хирурги Забайкалья в России : труды межрег. науч. практ. конф. – Чита, 2007. – С. 157–158.

34. Патогенез и диагностика постхолецистэктомического синдрома / **Е. В. Размахнин,** О. Г. Коновалова, Е. С. Кулькова, Д. Ю. Тришкин // Вершины эндохирургии – вершины Алханая : материалы межрег. науч. практ. конф. – Чита, 2010. – С. 150–152.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЭСА	– атомно-эмиссионный спектральный анализ
АлАт	– аланинаминотрансфераза
АсАт	– аспартатаминотрансфераза
ЖКБ	– желчнокаменная болезнь
МТБЭ	– метил-трет-бутиловый эфир
УДХК	– урсодезоксихолевая кислота
УЗ	– ультразвук
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ХДХК	– хенодезоксихолевая кислота
ЭПСТ	– эндоскопическая папиллосфинктеротомия
ЭРПХГ	– эндоскопическая ретроградная панкреатохолангиография

Автор выражает глубокую признательность и благодарность доктору медицинских наук, профессору Хышиктуеву Баиру Сергеевичу за консультативную помощь при выполнении экспериментальных исследований.