

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, ювілеї

УДК 616.33/.34-089.843-018:537:621.791.011]-092.4

DOI 10.11603/1811-2471.2018.v0.i3.9256

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИПРОБУВАННЯ ОРГАННОЇ МОДЕЛІ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕКТРОЗВАРНОГО МІЖКИШКОВОГО АНАСТОМОЗУ В ЛАБОРАТОРНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

©С. С. Подпрятів^{1,2,5}, С. Є. Подпрятів^{1,2,3}, С. Г. Гичка⁴, В. Г. Гетьман⁵, А. В. Макаров⁵,
Г. С. Маринський³, В. А. Ткаченко³, О. В. Чернець³, В. А. Васильченко³,
О. Ф. Петренко⁶, Д. В. Тарнавський⁶

Київський центр електрозварювальної хірургії та новітніх технологій¹

Київська міська клінічна лікарня № 1²

Інститут електрозварювання імені Є. О. Патона НАН України³

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця⁴

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика⁵

Національний університет біоресурсів і природокористування України⁶

РЕЗЮМЕ. При заміщенні живої свині органною моделлю кишки людини зі свинячого органокомплексу для потреб експерименту незрозумілою є повноцінність збереження діелектричних властивостей стінки кишки та можливості утворення в ній субстрату електрозварного з'єднання.

Мета – визначити відповідність обраної органної моделі потребам лабораторного етапу відпрацювання умов створення міжкишкового анастомозу з застосуванням методу електрозварювання, замість проведення гострого експерименту на тварині.

Матеріал і методи. Дослідили особливості зміни товщини, імпедансу та утворення субстрату електрозварного з'єднання в тканинах тонкої кишки діаметром 24–27 мм та товстої кишки діаметром 27–31 мм. Органною моделлю слугував органокомплекс свині. Його охолоджували до 4 °С та протягом 6–10 годин доставляли до лабораторії. Там біоімітатор занурювали у теплий (26–32 °С) розчин 0,9 % NaCl на 10–20 хв. Отримані показники порівняли з отриманими в гострому експерименті на свині масою 45 кг, за згодою комітету з біоетики. Створили 8 електрозварних анастомозів на тваринній моделі та 52 на органокомплексі. Ззовні на електроди прикладали тиск 2,1 Н/мм² або 3,0 Н/мм². Подавали імпульсну високочастотну напругу, що рівномірно зростала від 80 В до 120 В впродовж 0,2 секунди. Ділянку з'єднання кишки видаляли для гістологічного дослідження.

Результати. Під зовнішнім стисненням ми відзначили подібність еластичності та щільності, на межі еластичності. У живої тварини була вища об'ємна резистентність м'язового шару, але динаміка стоншення – тотожною, що свідчить про подібність структурної міцності шарів тканини. У первинному імпульсі імпеданс плавно знижувався, після чого плавно зростав. У наступному імпульсі імпеданс миттєво падав, а потім майже лінійно зростав впродовж всього імпульсу. Подібна форма реактивності імпедансу стабілізувалася з другого імпульсу в 92,3 % проб на органокомплексі та 96,2 % – на тварині. В усіх дослідженнях утворювалось щільне з'єднання внаслідок коагуляційних змін пучків гладеньком'язових волокон та колагенових волокон неоднорідної глибини, але з утворенням суцільної безперервної структури.

Висновки. Динаміка стиснення, перебіг електрозварного імпульсу крізь тканину та структура електрозварного анастомозу при використанні органокомплексу були такими ж, як і під час гострого експерименту на тварині.

З огляду на синергійність впливу на тканини кишки при створенні електрозварного анастомозу, розробка технології його створення потребує проведення численних експериментальних досліджень. Враховуючи відтворення у дослідженій органній моделі базових механічних та електричних характеристик живої тканини та очікуваних морфологічних електрозварних перетворень можна зробити висновок, що існує можливість повноцінного заміщення тваринної моделі на цій стадії розробки та проведення тривалого лабораторного експерименту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тиск; імпеданс; тканина; кишка; анастомоз; електрозварювання; тваринна модель; орган; заміщення; свиня; експеримент.

Вступ. Незважаючи на великі спостережні та експериментальні дослідження на моделях тварин та людях, частота неспроможності міжкишкового анастомозу (НМА) залишається незмінною [1]. Сформувалася впевненість, що НМА пов'язана з контактно-запальним способом з'єднання – і тому первинне електрозварне з'єднання в міжкишковому анастомозі (МА), яке має в своїй основі структурні перетворення, виглядає перспективним для подальшого дослідження [2].

Моделі тварин продовжують застосовувати на регулярній основі для дослідження нормального загоєння МА, а також НМА [3].

Окрім існуючих Правил використання експериментальних тварин, в Україні прийняті Етичні принципи експериментів на тваринах (Київ, 2001), що узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовують для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, Франція, 1985). Одним

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, ювілеї

із принципів є вивчення можливості скорочення кількості використаних для експериментів тварин, та пошук можливостей заміни їх органокомплексами, сурогатами, моделями тощо.

Повноцінну стінку кишечника як органоїд створити поки що не вдається [4].

Безпосереднє дослідження розробленої новітньої технології та можливість прямого перенесення результатів дослідження у клінічний експеримент є важливою властивістю моделі. Експертним консенсусом погоджено, що свині є найкращою моделлю для доклінічних досліджень МА. Можливість провести початкову серію досліджень на мишах, щурах і кролях, з подальшим впровадженням результатів на свинях, не була узгоджена [3].

При виборі тварини для моделі значною є роль обмежень і додаткових чинників, таких як доступність, фінансові витрати, догляд та умови перебування, тому результат вибору не завжди є однозначним [5]. Для досліджень МА немає жодної тваринної моделі, яка була б оптимальною з точки зору легкості використання, витрат, відтворюваності результатів та клінічного впровадження [3].

Важливим є проведення фундаментальних патофізіологічних досліджень МА перед проведенням інтервенційних модельних досліджень та правильність підбору моделі відповідно до досліджуваних аспектів [3].

Повідомлення про використані умови стиснення та подавання електричної напруги для радіочастотного впливу обмежені за кількістю і суттєво відрізняються за викладеними величинами [6, 7]. Діелектричні властивості вивчають для тканин в умовах спокою [8], але без синергічного модулюючого впливу, як це відбувається під час електрозварювання. Так само досліджують зміну товщини та резистентності кишкової стінки, зміну її імпедансу: моделюючи певні фізіологічні або близькі до них лікувальні умови [9–11], а не технологічні умови створення електрозварного МА. Отже, для дослідження таких умов потрібні численні лабораторні дослідження, з використанням повноцінної та повнорозмірної моделі органа – кишки. Такою моделлю може служити видалений свинячий органокомплекс, розміри якого відповідали б розмірам кишки людини. При цьому важливим є збереження властивостей живої тканини: резистентності, трансмембранних потенціалів, відповіді на подразнення – та можливостей утворення субстрату електрозварного з'єднання [12].

При забиранні органокомплексу найважливіше – уникнути теплової ішемії, але при цьому припустимим є ступеневе охолодження: спочатку до 10–15 °С, а потім – до 4 °С [13]. Толерантний період холодової ішемії, залежно від органа, може тривати від 6 до 24 годин [14].

Охолоджені та перфузовані спеціальним розчином нирки в окремих дослідженнях зберігали до 5 діб [15], але якісна перфузія вимагає складного та дорогого обладнання, яке застосовують у практиці трансплантації [16]. Підготовка органокомплексу до експерименту зануренням в ізотонічний розчин, як аналог класичного способу ізотонічної перфузії [17], була обґрунтована як засіб збереження механічних властивостей стінки кишки для дослідження впливу накладених швів [18]. Водночас, в тканині, навіть при 4 °С, дуже рано порушуються трансмембранний потенціал та іонний гомеостаз [16]. Також втрачаються інші бар'єрні функції [19]. Тому розробляються альтернативні, теплові способи збереження кишки, як функціонуючого органа [20], і такі способи стають все популярнішими впродовж останніх років [21].

Отже, незрозумілою є повноцінність збереження, передусім, діелектричних властивостей стінки кишки та можливості утворення в ній субстрату електрозварного з'єднання [12] під час експериментальних робіт на органокомплексі свині, відповідному до людського за розмірами, видаленому та перевезеному до лабораторії.

Мета – визначити відповідність обраної органічної моделі потребам лабораторного етапу відпрацювання умов створення міжкишкового анастомозу з застосуванням методу електрозварювання, замість проведення гострого експерименту на тварині.

Матеріал і методи дослідження. Вивчили особливості зміни товщини, імпедансу та утворення субстрату електрозварного з'єднання в стінці кишки. Матеріалом для дослідження була модель кишки людини з відповідним діаметром: 24–27 мм для тонкої кишки та 27–31 мм для товстої. Органною моделлю (біоімітатором) слугував органокомплекс сільськогосподарської тварини – свині. Органокомплекс забирали безпосередньо на фермі після умертвіння тварини, яке було заплановане з не пов'язаними з експериментом причинами, та відбувалося з дотриманням вимог Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та законодавства ЄС. Дослідження здійснили в умовах лабораторії відділу електрозварювання живих тканин Інституту електрозварювання імені Є. О. Патона НАН України.

Біоімітатор охолоджували до 4 °С та протягом 6–10 годин доставляли до лабораторії. В лабораторії його занурювали у теплий (26–32 °С) розчин 0,9 % NaCl на 10–20 хв, до досягнення тканиною температури розчину. Температуру тканини та розчину вимірювали інфрачервоним безконтактним пірометром GM300 (Benetech).

Отримані на біоімітаторі показники (група 1) порівняли з отриманими в дослідженні на ткани-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, ювілеї

нах кишки в комплексному гострому експерименті на тваринній моделі – 1 кабані породи «Українська велика біла» масою 45 кг (група 2). Експеримент проводили з дотриманням Правил використання експериментальних тварин та Етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2000), що узгоджуються з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, за згодою комітету з біоетики.

На тваринній моделі створили 8 зразків електрозварного з'єднання в МА. Під час перебігу електрозварювання реєстрували електричні параметри. Ділянку кишки, яка містила з'єднання, одразу видаляли для гістологічного дослідження.

Операцію виконували після премедикації під ендотрахеальним наркозом. Тварині у вольєрі здійснювали премедикацію з використанням препарату Комбістрес. Після досягнення седації тварину переносили в операційну та вводили в наркоз. Здійснювали лапаротомію, в рану виводили вибрану ділянку товстої кишки. Кишку пересікали в кількох місцях гострим способом, після чого накладали МА. Після закінчення програми експерименту тварину, не виводячи з наркозу, умертвляли шляхом введення смертельної дози натрію тіопенталу.

В усіх дослідженнях стінки кишки склали двічі, серозними оболонками досередини, моделюючи розташування кишки в циркулярному анастомозі, та фіксували між електродами прототипу спеціалізованого інструмента.

У 52 дослідженнях фрагментів тканини з обох груп ззовні на електроди прикладали попередньо відкаліброване механічне навантаження, створюючи ними на тканину послідовно тиск 2,1 Н/мм² та 3,0 Н/мм². Динаміку стиснення відслідковували за даними мікрометра «Індикатор багатообертовий годинникового типу 1МИГП», клас точності 1,0 (ТОВ «Западприбор»), який приєднували до електрода в складі дослідного стенду, та здійснювали виміри в статичному положенні й динаміці стиснення, фіксуючи покази. Використовуючи ці покази визначали первинну товщу тканини стінки кишки між електродами, динаміку та амплітуду стиснення, остаточну товщу тканини між електродами.

Для створення електрозварного з'єднання використовували виготовлений в Інституті електрозварювання затискач з кремальєрою та можливостями стиснення тканини до 2 Н/мм², при цьому площа електродів складала 50 мм².

Електрозварювальним джерелом живлення і електрозварювальних імпульсів були адаптовані до умов експериментів апарати для зварювання живих тканин ЕК-300М1 та ЕКВЗ-300 «Патонмед»

виробництва Інституту електрозварювання. Через модуль швидкого аналого-цифрового перетворення забезпечували реєстрацію значень струму і напруги в процесі електрозварювання та моніторинг з виведенням на екран в реальному часі цих значень, а також – імпедансу та вкладеної в тканину потужності.

Рамкові електричні параметри імпульсів були наступними: амплітуда високочастотної електричної напруги рівномірно підвищувалась в діапазоні від 80 В до 120 В. Тривалість імпульсу становила 0,2 секунди, тривалість проміжку між імпульсами 0,2 секунди.

Після випробування пропускали через затиснуті ділянки кишки повноскладовий комплекс електрозварних імпульсів.

Тканини вивільняли з інструменту, занурювали у 10 % розчин нейтрального формаліну і доставляли у лабораторію, де здійснювали стандартну гістологічну проводку тканин, заливали парафінові блоки та готували тонкі зрізи. Використовували загальногістологічні методики: забарвлення гематоксиліном-еозином або за ван Гізон. Застосовували методи гістохімічного дослідження: компоненти сполучної тканини виявляли за Novelli; фібрин – зафарбуванням фосфорновольфрамним гематоксиліном за Малорі; протеоглікани – ШИК-реакцією з зафарбуванням ядер гематоксиліном; кислі глікозаміноглікани – зафарбуванням толуїдиновим синім. Отримані гістологічні препарати досліджували при збільшенні в 40–400 разів.

Статистичну обробку отриманих даних виконували з використанням комп'ютерних програм пакета STATISTICA (StatSoft Statistica v.10.0.). Статистичну значимість порівнюваних показників з нормальним розподілом, який визначався за критерієм згоди Колмогорова–Смірнова, встановлювали з використанням дисперсійного аналізу (ANOVA) та t-критерію Стьюдента, при рівні значущості $p=0,05$. У тексті наведені репрезентативні фрагменти отриманих даних, що представлені як «середнє \pm стандартне відхилення» ($M \pm s$).

Результати й обговорення. На першому етапі дослідили амплітуду стиснення тканини стінки кишки між електродами в складі стенду.

Подібно до попередніх досліджень, графік потоншення розбили на дві послідовні складові: вплив первинного прикладання тиску (табл. 1) та подальший, до 60-ї секунди (табл. 2).

Як ми раніше встановили, первинне потоншення під тиском 2,1 Н/мм² переважно характеризує природну еластичність та резистентність слизової оболонки та підслизового шару тонкої кишки, а під тиском 3,0 Н/мм² відбувається вплив на її м'язовий шар. В отриманих даних ми спосте-

Таблиця 1. Відносне потоншення стінки тонкої кишки після первинного стискання залежно від величини прикладеного тиску (%) та температури тканини (°C)

Група	2,1 Н/мм ²	3,0 Н/мм ²	Температура тканини °C
1	51,2±6,4	57,9±6,2	26–32
2	48,6±5,1	64,5±11,3	32–37

Таблиця 2. Абсолютне середнє потоншення стінки тонкої кишки в другій фазі стиснення, залежно від величини прикладеного тиску (у мм, початок діапазону – кінець діапазону) та температури тканини (°C)

Група	2,1 Н/мм ²	3,0 – 3,9 Н/мм ²	Температура тканини, °C
1	0,37–0,26	0,36–0,26	26–32
2	0,41–0,34	0,41–0,32	32–37

рігаємо подібність еластичності та щільності в групах, на межі еластичності. Подальше потоншення переважно характеризує волоконну та м'язову складові міцності стінки кишки, надто під тиском 3,0 Н/мм². У групі 2 спостерігаємо вищу об'ємну резистентність м'язового шару, але динаміка потоншення є тотожною, що свідчить за подібність характеристики структурної міцності шарів тканини у досліджуваних групах.

У наступній серії досліджень вивчали зміни імпедансу в тканині між електродами при лінійному підвищенні амплітуди електричної напруги в імпульсі з 80 до 120 В.

Лінійне зростання сили струму впродовж імпульсу змінювалось на початкове пікове з подальшим експоненційним зниженням на другому імпульсі у всіх пробах. Відповідно, у первинному імпульсі імпеданс плавно знижувався, після чого плавно зростав. У наступному імпульсі імпеданс миттєво падав, а потім майже лінійно зростав впродовж всього імпульсу. Подібна форма реактивності імпедансу стабілізувалася з другого імпульсу у 92,3 % спостережень групи 1 та 96,2 % спостережень групи 2. У решті досліджень первинний пік був тривалішим, і ставав гострим, починаючи з третього імпульсу (рис. 1).

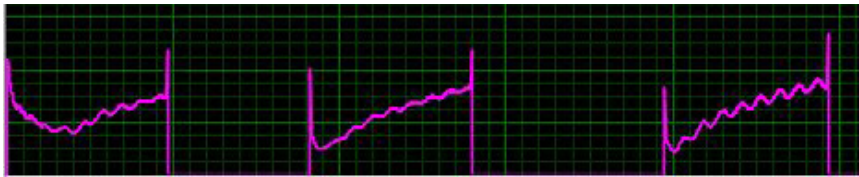


Рис. 1. Зміна електропровідності тканини впродовж поданих імпульсів зі зростаючою амплітудою напруги від 80 В до 120 В. Стабілізація відбулася, починаючи з другого імпульсу.

В наступній групі досліджень вивчали формування основного компонента субстрату електрозварного МА – злиття колагенових та м'язових волокон. В усіх дослідженнях утворювалось щільне з'єднання стінок унаслідок коагуляційних змін пучків гладеньком'язових та колагенових волокон в умовах зовнішнього стиснення. В деяких гладеньком'язових волокнах збереглися

контури ядер. З'єднання в МА складалося з ділянок електрозварного перетворення стінок кишки неоднорідної глибини (рис. 2), але з утворенням суцільної безперервної структури. При цьому характер коагуляційних змін, розміри та густина розташування дрібних лакун всередині субстрату анастомозу були однаковими в обох групах.

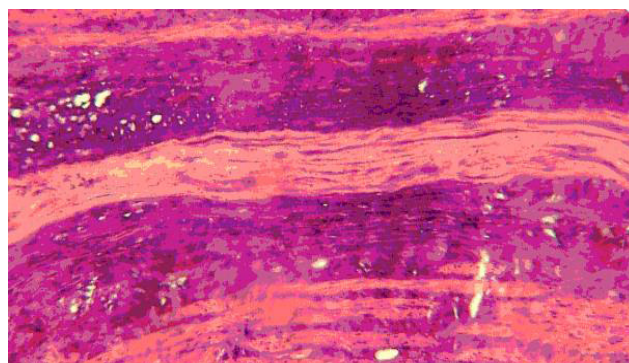


Рис. 2. Щільне з'єднання тканин внаслідок електрозварювання. Вогнища поглиблених коагуляційних змін гладеньком'язових та колагенових волокон у місцях проходження сильнішого струму. Забарвлення гематоксином та еозином. X 100

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, ювілеї

Висновки. 1. Тканини кишки з органокомплексу, видаленого за 6–10 годин перед дослідженням, змінювались під впливом стискання подібно до тканин, досліджених безпосередньо під час гострого експерименту на тварині.

2. Перебіг електрозварного імпульсу крізь тканину між електродами при використанні органокомплексу був таким же, як і під час гострого експерименту на тварині.

3. Структура електрозварного анастомозу, отриманого на органокомплексі, відповідала структурі анастомозу, отриманого в гострому експерименті.

4. Властивості тканини з дослідженої органічної моделі відповідають таким у живих тканинах кишки в гострому експерименті, що надає можливість використовувати модель для заміщення живої тварини для проведення лабораторних стендових досліджень.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи синергійність впливу на тканини кишки в електрозварному МА, розробка технології його створення потребує проведення численних експериментальних досліджень. Їх кількість кратно збільшується при створенні нових інструментів або нових режимів подавання електрозварювальної напруги. Для проведення вказаних досліджень потрібен дешевий та доступний матеріал, що за

розмірами та властивостями подібний до тканин людини.

У багатьох дослідженнях, проведених іншими науковцями, встановлена подібність тканин свині до тканин людини. Це стало підставою для проведення базових досліджень у гострому досліді на свині. Однак такі досліді є високовартісними та потребують спеціального анестезіологічного, медикаментозного та ветеринарного забезпечення.

Враховуючи відтворення у дослідженій органічній моделі біоімітатора кишки людини базових механічних та електричних характеристик живої тканини та очікуваних морфологічних електрозварних перетворень – існує можливість повноцінного заміщення тваринної моделі на етапі відпрацювання умов та інструменту для створення електрозварного МА в умовах лабораторного стендового експерименту. Ми встановили можливість використання для експериментальних досліджень свиного органокомплексу з тривалістю зберігання до 10 годин, що відкриває можливості дослідження численних складових технології впродовж одного експерименту.

Експериментальне дослідження на живій тваринній моделі необхідне на етапі перевірки розроблених умов та дослідження особливостей загоєння в електрозварному міжкишковому з'єднанні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Colorectal anastomotic healing: why the biological processes that lead to anastomotic leakage should be revealed prior to conducting intervention studies / J. W. A. M. Bosmans, A. C. H. M. Jongen, N. D. Bouvy, J. P. Derikx // *BMC Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 15 (1). – P. 180. DOI: 10.1186/s12876-015-0410-3

2. Ho Y.-H. Techniques for colorectal anastomosis / Y.-H. Ho, M. A. T. Ashour // *World Journal of Gastroenterology: WJG*. – 2010. – Vol. 16 (13). – P. 1610–1621. DOI: 0.3748/wjg.v16.i13.1610

3. International consensus statement regarding the use of animal models for research on anastomoses in the lower gastrointestinal tract / J. W. A. M. Bosmans, M. Moosdorff, M. Al-Taher [et al.] // *Int. J. Colorectal Dis.* – 2016. – No. 31. – P. 1021. DOI: 10.1007/s00384-016-0102-1

4. Organoid models of human gastrointestinal development and disease / P. H. Dedhia, N. Bertaux-Skeirik, Y. Zavros, J. R. Spence // *Gastroenterology*. – 2016. – Vol. 150 (5). – P. 1098–1112. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.12.042

5. Systematic review of experimental studies on intestinal anastomosis / S. T. Yauw, K. E. Wever, A. Hoesseini [et al.] // *Br. J. Surg.* – 2015. – No. 102. – P. 726–734. DOI: 10.1002/bjs.9776

6. Bipolar radiofrequency-induced thermofusion of intestinal anastomoses – feasibility of a new anastomosis technique in porcine and rat colon / C. Holmer, H. Winter,

M. Kröger [et al.] // *Langenbecks Arch. Surg.* – 2011. – Vol. 396. – P. 529. doi: 10.1007/s00423-011-0756-0

7. Colorectal anastomosis facilitated by the use of the LigaSure (R) sealing device: comparative study in an animal model / F. Sánchez-De Pedro, C. Moreno-Sanz, A. Morandeira-Rivas [et al.] // *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques*. – 2014. – Vol. 28. – P. 508. DOI: 10.1007/s00464-013-3194-y

8. Gabriel S. The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz / S. Gabriel, R. W. Lau, C. Gabriel // *Physics in Medicine and Biology*. – 1996. – Vol. 41 (11). – P. 2251.

9. Comparative study of the microvascular blood flow in the intestinal wall, wound contraction and fluid evacuation during negative pressure wound therapy in laparotomy using the V.A.C. abdominal dressing and the AB-Thera open abdomen negative pressure therapy system / S. Lindstedt, M. Malmsjö, J. Hlebowicz, R. Ingemansson // *Int. Wound J.* – 2015. – No. 12. – P. 83–88. DOI: 10.1111/iwj.12056

10. A new combined high-frequency ultrasound-impedance planimetry measuring system for the quantification of organ wall biomechanics in vivo / C. S. Jorgensen, F. H. Dall, S. L. Jensen, H. Gregersen // *Int. Wound J.* – 2013. – Vol. 10 (4). – P. 411–417. DOI: 10.1016/0021-9290(95)95275-A

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, ювілеї

11. Choledochojejunostomy with an innovative magnetic compressive anastomosis: How to determine optimal pressure? / F. Xue, H.-C. Guo, J.-P. Li [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2016. – Vol. 22 (7). – P. 2326–2335. DOI: 10.3748/wjg.v22.i7.2326
12. Патон Б. Є. Тканесохраняющая высокочастотная электросварочная хирургия (Атлас) / за ред. Б. Є. Патон, О. М. Иванова. – К. : Наукова думка, 2009. – 193 с.
13. A flexible procedure for multiple cadaveric organ procurement / T. E. Starzl, T. R. Hakala, B. W. Shaw // *Surgery, Gynecology & Obstetrics*. – 1984. – Vol. 158 (3). – P. 223–230.
14. Organ preservation: Current concepts and new strategies for the next decade / E. E. Guibert, A. Y. Petrenko, C. L. Balaban [et al.] // *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. – 2011. – Vol. 38 (2). – P. 125–142. DOI: 10.1159/000327033
15. Successful five-day kidney preservation. Perfusion with hypothermic, diluted plasma / A. L. Humphries, R. Russell, L. D. Stoddard, W. H. Moretz // *Invest. Urol.* – 1968. – Vol. 5 (6). – P. 609–618.
16. Taylor M. J. Current state of hypothermic machine perfusion preservation of organs: The clinical perspective / M. J. Taylor, S. C. Baicu // *Cryobiology*. – 2010. – Vol. 60 (3S). – P. S20–S35. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2009.10.006
17. Collins G. M. Kidney preservation for transportation / G. M. Collins, M. Bravo-Shugerman, P. I. Terasaki // *Lancet*. – 1969. – No. 2. – P. 1219–1222.
18. Кишечный шов. Физико-механические аспекты / В. И. Егоров, Р. А. Турусов, И. А. Счастливец, А. О. Баранов. – М. : Видар, 2004. – 200 с.
19. 2003 Report of the intestine transplant registry. A new era has dawned / D. Grant, K. Abu-Elmagd, J. Reyes [et al.] // *Ann. Surg.* – 2005. – Vol. 241 (4). – P. 607–613. DOI: 10.1097/01.sla.0000157265.85388.a1
20. Alleviating intestinal ischemia-reperfusion injury in an in vivo large animal model: developing an organ-specific preservation solution / P. Salehi, D. Bigam, J. Ewaschuk, [et al.] // *Transplantation*. – 2008. – No. 85. – P. 878–884. DOI: 10.1097/TP.0b013e318166a42f.
21. Normothermic perfusion a New Paradigm for Organ Preservation / J. G. Brockmann, S. Reddy, P. J. Friend [et al.] // *Annals of Surgery*. – 2009. – No. 250. – P. 1–6. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181a63c10.

REFERENCES

1. Bosmans, J.W.A.M., Jongen, A.C.H.M., Bouvy, N.D., & Derikx, J.P. (2015). Colorectal anastomotic healing: why the biological processes that lead to anastomotic leakage should be revealed prior to conducting intervention studies. *BMC Gastroenterology*, 15 (1), 180. DOI: 10.1186/s12876-015-0410-3
2. Ho, Y.-H., & Ashour, M.A.T. (2010). Techniques for colorectal anastomosis. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 16 (13), 1610-1621. doi.org/10.3748/wjg.v16.i13.1610
3. Bosmans, J.W.A.M., Moosdorff, M., Al-Taher, M., van Beek, L., Derikx, J.P.M. & Bouvy, N.D. (2016). International consensus statement regarding the use of animal models for research on anastomoses in the lower gastrointestinal tract. *Int. J. Colorectal Dis.*, 31, 1021. DOI: 10.1007/s00384-016
4. Dedhia, P.H., Bertaux-Skeirik, N., Zavros, Y., & Spence, J.R. (2016). Organoid models of human gastrointestinal development and disease. *Gastroenterology*, 150 (5), 1098-1112. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.12.042
5. Yauw, S.T., Wever, K.E., Hoesseini, A., Ritskes-Hoitinga, M. & van Goor, H. (2015). Systematic review of experimental studies on intestinal anastomosis. *Br. J. Surg.*, 102, 726-734. DOI: 10.1002/bjs.9776
6. Holmer, C., Winter, H., Kröger, M., Nagel, A., Jaenice, A., Lauster, R., ... Ritz, J.P. (2011). *Langenbecks Arch. Surg.*, 396, 529. DOI: 10.1007/s00423-011-0756-0
7. Sánchez-De Pedro, F., Moreno-Sanz, C., Morandeira-Rivas, A., María Tenías-Burillo, J., Alhambra-Rodríguez De Guzmán, Cr., Moreno-Sanz, C., ... Alhambra-Rodríguez De Guzmán, Cr. (2014). Colorectal anastomosis facilitated by the use of the LigaSure® sealing device: comparative study in an animal model. *Surg. Endosc.*, 28, 508. DOI: 10.1007/s00464-013-3194-y
8. Gabriel, S., Lau, R.W., & Gabriel, C. (1996). The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz. *Physics in Medicine and Biology*, 41 (11), 2251.
9. Lindstedt, S., Malmsjö, M., Hlebowicz, J. & Ingemansson, R. (2015). Comparative study of the microvascular blood flow in the intestinal wall, wound contraction and fluid evacuation during negative pressure wound therapy in laparostomy using the V.A.C. abdominal dressing and the ABThera open abdomen negative pressure therapy system. *Int. Wound J.*, 12, 83-88. DOI: 10.1111/iwj.12056
10. Jorgensen, C.S., Dall, F.H., Jensen, S.L. & Gregeresen, H. (2013). A new combined high-frequency ultrasound-impedance planimetry measuring system for the quantification of organ wall biomechanics in vivo. *Int. Wound J.*, 10 (4), 411-417. DOI: 10.1016/0021-9290(95)95275-A
11. Xue, F., Guo, H.-C., Li, J.-P., Lu, J.-W., Wang, H.-H., Ma, F., ... Lv, Y. (2016). Choledochojejunostomy with an innovative magnetic compressive anastomosis: How to determine optimal pressure? *World Journal of Gastroenterology*, 22 (7), 2326-2335. DOI: 10.3748/wjg.v22.i7.2326
12. Paton, B.E. & Ivanova, O.M. (Eds.). (2009). *Tkanesoekhryayushchaya vysokochastotnaya elektrosvarochhnaya khirurgiya (Atlas) [The live tissue preserving high-frequency electric welding surgery (Atlas)]*. Kyiv: Naukova Dumka [in Russian].
13. Starzl, T.E., Hakala, T.R., Shaw, B.W., Hardesty, R.L., Rosenthal, T.J., Griffith, B.P., ... Bahnson, H.T. (1984). A flexible procedure for multiple cadaveric organ procurement. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*, 158 (3), 223-230.
14. Guibert, E.E., Petrenko, A.Y., Balaban, C.L., Somov, A.Y., Rodriguez, J.V., & Fuller, B.J. (2011). Organ Preservation: Current Concepts and New Strategies for the Next Decade. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 38 (2), 125-142 DOI: 10.1159/000327033
15. Humphries, A.L.Jr., Russell, R., Stoddard, L.D. & Moretz, W.H. (1968). Successful five-day kidney preservation. Perfusion with hypothermic, diluted plasma. *Invest. Urol.*, 5 (6), 609-618.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, ювілеї

16. Taylor, M.J. & Baicu, S.C. (2010). Current state of hypothermic machine perfusion preservation of organs: The Clinical Perspective. *Cryobiology*, 60 (3S), S20-S35. DOI:10.1016/j.cryobiol.2009.10.006
17. Collins, G.M., Bravo-Shugarman, M. & Terasaki, P.I. (1969). Kidney preservation for transportation. *Lancet*, 2, 1219-1222.
18. Egorov, V.I., Turusov, R.A., Schastlivtsev, I.A. & Baganov, A.O. (2004). *Kishechnyy shov. Fiziko-mekhanicheskiye aspekty [Intestinal suture. Physical-mechanical aspects]*. Moscow: Vidar [in Russian].
19. Grant, D., Abu-Elmagd, K., Reyes, J., Tzakis, A., Lannas, A., Fishbein, T., ... on behalf of the Intestine Transplant Registry. (2005). 2003 Report of the Intestine Transplant Registry: A New Era Has Dawned. *Annals of Surgery*, 241 (4), 607-613. DOI: 10.1097/01.sla.0000157265.85388.a1
20. Salehi, P., Bigam, D.L., Ewaschuk, J.B., Madsen, K.L., Sigurdson, G.T., Jewell, L.D. & Churchill, T.A. (2008). Alleviating intestinal ischemia-reperfusion injury in an in vivo large animal model: Developing an organ-specific preservation solution. *Transplantation*, 27, 85 (6), 878-884. DOI: 10.1097/TP.0b013e318166a42f.
21. Brockmann, J.G., Reddy, S., Coussios, C., Pigott, D., Guirriero, D., Hughes, D., ... Friend, P. (2009). Normothermic perfusion a new paradigm for organ preservation. *Annals of Surgery*, 250, 1-6. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181a63c10.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИСПЫТАНИЕ ОРГАННОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРОСВАРНОГО МЕЖКИШЕЧНОГО АНАСТОМОЗА В ЛАБОРАТОРНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

©С. С. Подпрятков^{1,2,5}, С. Е. Подпрятков^{1,2,3}, С. Г. Гичка⁴, В. Г. Гетьман⁵, А. В. Макаров⁵, Г. С. Маринский³, В. А. Ткаченко³, А. В. Чернец³, В. А. Васильченко³, О. Ф. Петренко⁶, Д. В. Тарнавский⁶

Киевский городской центр электросварочной хирургии и новых хирургических технологий¹

Киевская городская клиническая больница № 1²

Институт электросварки им. Е. О. Патона НАН Украины³

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца⁴

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика⁵

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины⁶

РЕЗЮМЕ. При замещении живой свиньи органной моделью кишки человека из свиного органокомплекса для нужд эксперимента непонятной является полноценность сохранения, прежде всего, диэлектрических свойств стенки кишки и возможности образования в ней субстрата электросварного соединения.

Цель – определить соответствие выбранной органной модели потребностям лабораторного этапа отработки условий создания межкишечного анастомоза с применением метода электросварки, вместо проведения острого эксперимента на животном.

Материал и методы. Исследовали особенности изменения толщины, импеданса и образования субстрата электросварного соединения в тканях тонкой кишки диаметром 24–27 мм и толстой кишки диаметром 27–31 мм. Органной моделью выбрали органокомплекс свиньи. Его охлаждали до 4 °С и в течение 6–10 часов доставляли в лабораторию. Там биоимитатор погружали в теплый (26–32 °С) раствор 0,9 % NaCl на 10–20 мин. Полученные показатели сравнили с полученными в остром эксперименте на свинье массой 45 кг, с согласия комитета по биоэтике. Создали 8 электросварных анастомозов на животной модели и 52 на органокомплексе. Извне на электроды прикладывали давление 2,1 Н/мм² или 3,0 Н/мм². Подавали импульсное высокочастотное напряжение, равномерно возрастающее от 80 В до 120 В в течение 0,2 секунды. Участок соединения кишки удаляли для гистологического исследования.

Результаты. Под давлением отметили сходство тканей по эластичности и плотности, на границе эластичности. У животного была выше объемная резистентность мышечного слоя, но динамика утончения – тождественной, что свидетельствует о сходстве структурной прочности слоев ткани. В первоначальном импульсе импеданс плавно снижался, после чего плавно возрастал. В следующем импульсе импеданс мгновенно падал, а затем почти линейно возрастал в течение всего импульса. Подобная форма реактивности импеданса стабилизировалась с другого импульса в 92,3 % проб на органокомплексе и 96,2 % у животного. Во всех исследованиях образовывалось плотное соединение стенок в результате коагуляционных изменений пучков гладкомышечных волокон и коллагеновых волокон неоднородной глубины, но с образованием сплошной непрерывной структуры.

Выводы. Динамика сжатия, протекание электросварочного импульса сквозь ткань и структура электросварочного анастомоза при использовании органокомплекса были такими же, как и во время острого эксперимента на животном.

Принимая во внимание синергичность воздействия на ткани кишки при создании электросварного анастомоза, разработка технологии его создания требует проведения многочисленных экспериментальных исследований. Учитывая воспроизведение в исследованной органной модели базовых механических и электрических характеристик живой ткани и ожидаемых морфологических электросварных преобразований можно сделать вы-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, ювілеї

вод, что существует возможность полноценного замещения животной модели на этой стадии разработки и проведения длительного лабораторного эксперимента.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: давление; импеданс; ткань; кишка; анастомоз; электросварка; животная модель; орган; замещение; свинья; эксперимент.

THE ORGAN MODEL COMPARATIVE STUDY FOR THE ELECTRIC WELDING ANASTOMOSIS INVESTIGATION NEEDS LABORATORY EXPERIMENT

©S. S. Podpriatov^{1,2,5}, S. E. Podpriatov^{1,2,3}, S. G. Gichka⁴, V. G. Hetman⁵,
A. V. Makarov⁵, G. S. Marinsky³, V. A. Tkachenko³, O. V. Chernets³, V. A. Vasylychenko³,
O. F. Petrenko⁶, D. V. Tarnavsky⁶

Clinical Research Centre of Bonding/Welding Surgery and New Surgical Technologies, Kyiv¹

Kyiv Municipal Hospital Clinic No. 1²

E. Paton Electric Welding Institute of National Academy of Science³

O. Bohomolets National Medical University⁴

P. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education⁵

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine⁶

SUMMARY. In animal replacement by organ model for experimental human intestine modeling, it is incomprehensible the porcine organ complex remain, first of all, its intestinal wall dielectric properties as well as electrically welded compound forming possibility.

The aim of the work – to determine the selected organ model conformity to the needs of the laboratory experimental conditions for creating an intestinal anastomosis by electric welding method, instead of animal acute experiment providing.

Material and Methods. The features of thickness, impedance and substrate formation of an electrically welded tissues connection between the small intestines by 24–27 mm diameter or colon by 27–31 mm were studied. Swine organ complex was chosen as the organ model. It was cooled to 4 °C and delivered to the laboratory within 6–10 hours. The bioimitant was immersed in a warm (26–32 °C) solution of 0.9 % NaCl for 10–20 min. The obtained indices were compared with those obtained in an acute experiment on a 45 kg male pig, with the consent of the bioethics committee. Eight electric welded anastomoses were created in the animal model and 52 in the organ complex. The pressure of 2.1 N/mm² or 3.0 N/mm² was applied to the electrodes. A pulsed high-frequency voltage, increasing from 80 V to 120 V, was applied for 0.2 seconds. The intestinal anastomosis site was removed for histological examination.

Results. The similarity of both groups' tissues in elasticity and density, at the elasticity boundary, was noted under pressure. The animal had higher volume resistance of the muscle layer, but the dynamics of thinning – the same, which indicates a similar structural strength of the tissue layers. During the initial impulse, tissue impedance decreased smoothly, after which it gradually grew. During next impulse, the impedance had fallen peak, and then almost linearly increased during the entire impulse. This form of impedance reactivity stabilized to second impulse observed in 92.3 % organ probes and 96.2 % in animal. In all studies, a dense connection of the walls was formed as a result of coagulation changes in the bundles of smooth muscles and collagen fibers nonlineary, but as continuously formed structure.

Conclusions. The dynamics under compression, the electric welding impulses flow through the tissue and the electric welding anastomosis structure were the same as in organocomplex as during the animal acute experiment. As for synergistic effect on the intestinal tissues during electric welding anastomosis creating, the technology development at this field requires numerous experimental studies. Considering the basic mechanical and electrical characteristics of living tissue as well as expected morphological electrowelded transformations reproduction in the examined organ model, it looks possible to fully replace the animal model at this experimental stage, and to conduct a long laboratory experiment.

KEY WORDS: pressure; impedance; tissue; intestine; anastomosis; electric welding; animal model; organ; replacement; pig; experiment.

Отримано 18.08.2018