

А.С.ОЛИВАР, Доктор медицины (M.D.), Ф.А.ФОРУХАР, Доктор медицины (M.D.),
К.Дж.ГИЛЛЬЕС, Магистр наук (M.S.), Д.Р.СЕРВАНСКИ, Бакалавр (B.A.)
Хартфордский госпиталь, Хартфорд; Университет Коннектикутского центра здоровья,
Фармингтон

ТРАНСМИССИОННАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ: ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ФАЛЛОПИЕВОЙ ТРУБЫ, НАНЕСЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ХИРУРГИЧЕСКИМИ ИНСТРУМЕНТАМИ

В журн.: Анналы клинических и лабораторных исследований. Т.29, № 4, 1999.

Введение

Для остановки кровотечения и разрезов наиболее часто используется электрокаутер. Однако предполагают, что этот инструмент наносит сильное повреждение за счет боковой отдачи тепла. По этой причине в последнее время хирурги начали использовать другие инструменты, такие как CO₂ и другие лазеры (аргон, KTP-532, Nd-YAG) в надежде, что они будут меньше травмировать окружающие ткани.

Удаление фаллопиевых труб является довольно распространенной операцией в случаях, например, внематочной беременности или пластики маточных труб. В этих случаях чаще всего используют скальпель, электрокаутер или CO₂-лазер. Однако нет достаточных доказательств для научного обоснования применения одного конкретного метода, который бы обеспечивал наименьшее травмирование окружающих здоровых тканей и в то же время обеспечивал бы надежный гемостаз.

В соответствии с принципами микрохирургии, при большем механическом травмировании следует ожидать большего образования спаек и нарушения функции органов. И совершенно логично прийти к заключению, что для разреза органа (в нашем случае фаллопиевой трубы) нужно выбирать такой инструмент, который вызовет наименьшее тепловое повреждение как по площади, так и глубине. Кроме того, совершенствование приемов хирургических операций должно способствовать повышению уровня репродуктивности и повышению рождаемости.

Целью настоящего исследования является получение информации по различным типам «режущих» инструментов, которые могли бы использоваться в клинической практике, не забывая при этом о широком спектре репродуктивных хирургических операций на фаллопиевых трубах путем лапароскопии или лапаротомии.

Материалы и методы

Срезы перемычки фаллопиевых труб были взяты у пациенток в предклимактерическом возрасте (30 - 42 года), которым была выполнена полостная или вагинальная гистерэктомия с двусторонней сальпингоофорэктомией по не очень сложным показаниям (кроме воспаления тазовых органов). Проведение исследования было утверждено Исследовательским комитетом Института.

Взятые образцы были немедленно исследованы патологом, который дал разрешение на их использование, если не выявятся какие-либо серьезные аномалии. Удаление фаллопиевых труб проходило со скоростью 1,4 - 1,6 см в сек. Для разрезов на перемычке маточной трубы использовались следующие инструменты:

- электрокаутер (Вэлли Лабораториз, Инк. (Valley Laboratories, Inc.), Боулдер, Колорадо) с микроэлектродами диаметром около 0,12 мм в режиме 3 и 5 (около 110 В при нагрузке 500 Ом ± 20 процентов) и на частоте 0,4 МГц 726;
- радиочастотный хирургический инструмент (Эллман Интернэшнл, Инк. (Ellman International, Inc.), Хьюлетт, Нью-Йорк) с микроэлектродами диаметром около 0,12 мм, установки мощности 3 и 5 (110 вольт при нагрузке 400 Ом), дающие около 90,75 Вт и 151,25 Вт, частота 4,0 МГц;
- CO₂-лазер (Шарплан Лазерс, Инк. (Sharplan Lasers, Inc.), Аллендейл, Нью-Йорк) в режиме 5,25 Вт и 50 Вт с диаметром точки 0,2 мм (плотность мощности, соответственно,

около 12 500, 62 500 и 125 000 Вт/см²), постоянный режим (ПР) и переменный сверхимпульсный режим (ПСИ) при средней мощности 15 Вт;

➤ КТР-532 (Лазерскоуп (Laserscope), Санта-Клара, Калифорния) при 5, 15 и 20 Вт с волоконным световодом диаметром 0,6 мм (1 388, 4 166 и 5 555 Вт/см²), постоянный режим;

➤ Nd-YAG лазер (Лазерскоуп) при 5, 25 и 50 Вт с волоконным световодом диаметром 0,6 мм (1 388, 6 944 и 13 888 Вт/см²), постоянный режим.

Ниже приводится формула для подсчета приблизительной плотности мощности:

а) для электрокаутера и радиохирургических инструментов:

$$\text{Мощность (Вт)} = (\text{напряжение})^2 \times \text{режим} / \text{сопротивление нагрузки}$$

б) для лазеров:

$$\text{Плотность мощности} = \text{ватт} \times 100 / (\text{диаметр точки})^2 \text{ в мм (Вт/см}^2\text{)}.$$

С помощью этих двух формул можно рассчитать приблизительную плотность мощности. По формуле (б) можно приблизительно рассчитать плотность мощности при электрокаутеризации и радиохирургических операциях. Однако, применяя каждую из формул, следует учитывать, что они дают обобщенные приблизительные результаты. Пробы, взятые из области среза, сразу же помещали в буферный раствор 4% глутаралдегида какодилата на 4-6 часов, а затем - в 0,1 М буферный раствор какодилата и охлаждали. После этого каждый образец изучали под препаровальным микроскопом и делили на три части для последующего изучения. После высушивания путем пропускания через серию спиртовых растворов, оксида пропилена и инфильтрации с помощью смолы, кусочки помещали в плоские формы. Каждый кусочек был расположен так, чтобы по продольному срезу можно было оценить степень повреждения ткани.

На толстых препаратах (толщиной 1 микрон) делались разрезы и окрашивались синем толуидином. На тонких препаратах (толщиной 60 нм) делались разрезы, окрашивались уранил-ацетатом и цитратом свинца и изучались в Филипс ЕМ 300. Каждый срез помещали на медную тонкую решетку диаметром 3,05 мм. Размер ячеек сетки был 115 мкм, а прутков - 10 мкм (рис. 1). Повреждение ткани оценивали по обработанной поверхности, рассматривая клетки по очереди в каждом квадратице. Повреждение клеток отмечали по изменениям, указывающим на гибель клетки, а именно: набухшим митохондриям, изменению ядер в хроматиновой сетке и исчезновению архитектуры клетки. В каждом опыте регистрировали расстояние «в квадратицах» от поверхности.



Рис. 1. Микроснимок электронной трансмиссии (x 14 000), на котором видны четкие структуры здоровых клеток на срезе 0,3 мм, сделанном с использованием двух радиохирургических инструментов.

Результаты

В таблице 1 показана степень латерального термального повреждения перемишки маточных труб. После того, как были сделаны разрезы микроэлектрокаутерами, повреждение тканей фиксировали на расстоянии 0,550 мм от области разреза.

Табл. 1. Электронная трансмиссия под микроскопом, показывающая латеральные термические повреждения маточных труб при использовании различных инструментов.

Инструменты	Плотность мощности (настройка по шкале в ваттах или цифрах)	Диаметр электрода или точки (в мм)	Степень повреждения ткани (в мм)
Электрокаутеризация	3	0,12	0,550
	5	0,12	0,750
Радиочастотный хирургический инструмент	3	0,12	0,3
	5	0,12	0,3
Лазер KTP-532	5	0,6	0,600
	15	0,6	0,800
	20	0,6	1,2
Лазер Nd-YAG	5	0,6	0,800
	25	0,6	0,800
	50	0,6	1,3
Лазер CO ₂ (ПР)	5	0,25	0,600
	25	0,25	0,550
	50	0,25	0,5
Лазер CO ₂ (ПСП)	15*	0,25	0,350

ПР = Постоянный режим

ПСП = Промежуточный сверхимпульсный режим

* = Средняя мощность в ваттах

Разрезы, сделанные с помощью радиохирurgicalических инструментов, вызвали повреждения только на 300 нм независимо от настройки по шкале (или плотности мощности). Лазеры KTP-532 и Nd-YAG при высоких плотностях мощности вызвали наибольшее латеральное термическое повреждение. Лазеры CO₂ и KTP-532 при промежуточных значениях плотности мощности, использовавшиеся в Постоянном режиме, вызвали повреждения на расстоянии 500 и 600 нм соответственно. Однако CO₂-лазер при средней мощности 15 Вт, работавший в переменном сверхимпульсном режиме, вызвал латеральные термические повреждения на расстоянии только 350 нм. Примеры таких повреждений можно видеть на рис. 1, где показан срез маточной трубы толщиной 0,3 мм, взятый из поврежденной зоны. На рисунке четко видны морфологически незатронутые клеточные структуры при использовании радиохирurgicalических инструментов. И наоборот, на рис. 2 видны поврежденные клеточные структуры на расстоянии 1,2 мм от места воздействия при использовании лазера Nd-YAG с высокой плотностью мощности (13 888 Вт/см²). На рис. 3 показаны почти неповрежденные клеточные структуры на срезах толщиной 0,3 мм, когда CO₂-лазер работал в переменном сверхимпульсном режиме. На срезах толщиной 0,35 мм видны нормальные клеточные структуры.

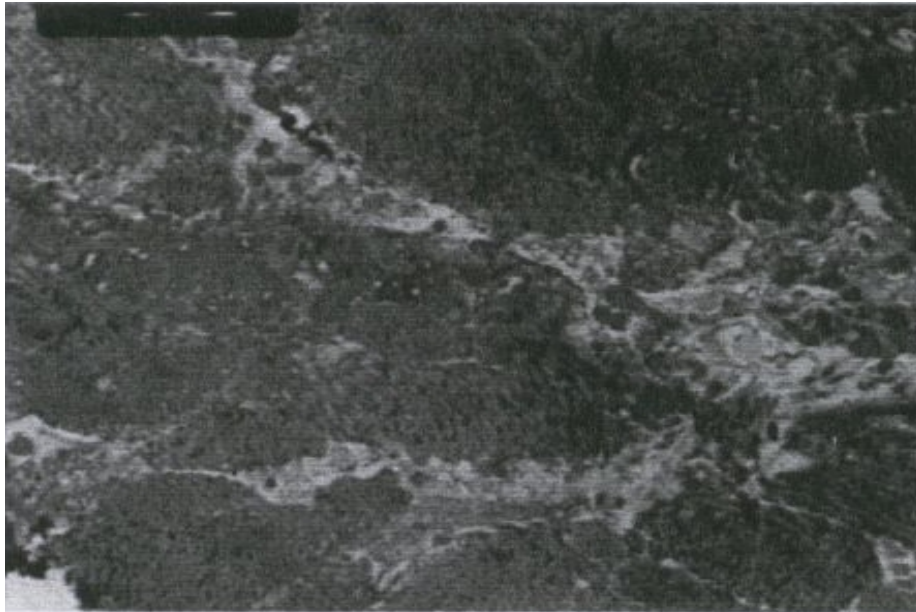


Рис. 2. Микроснимок электронной трансмиссии (x 17 000) среза маточной трубы толщиной 1,2 мм, на котором видны поврежденные клеточные структуры при использовании лазера Nd-YAG.

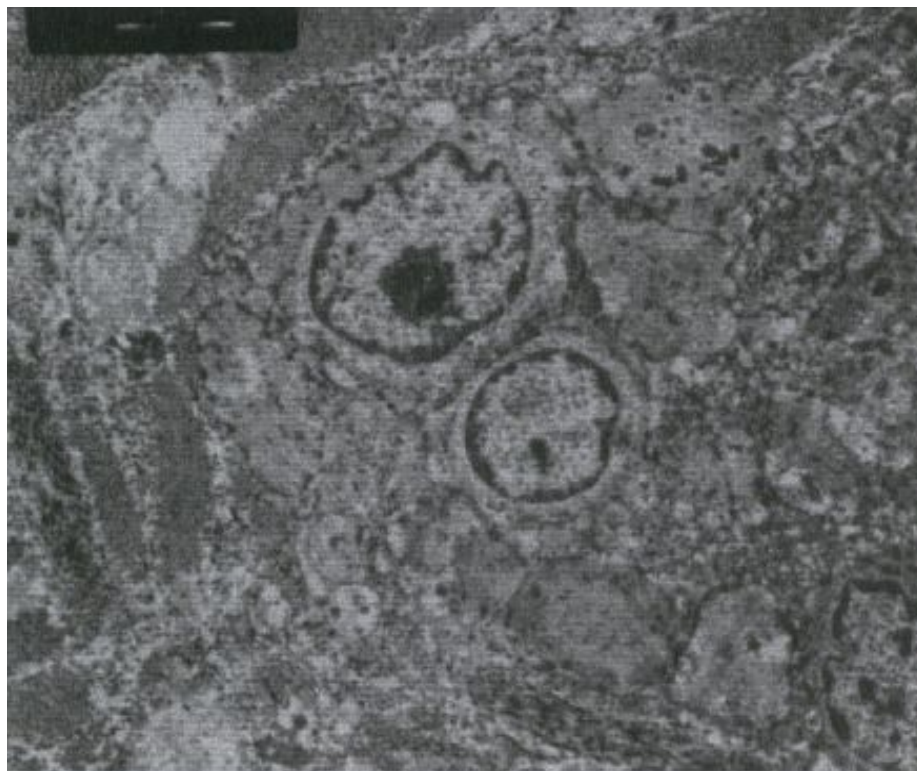


Рис. 3. Микроснимок электронной трансмиссии (x 14 000) среза маточной трубы толщиной 0,3 мм, сделанном CO₂-лазером в сверхимпульсном режиме, на котором видны здоровые клеточные структуры.

Обсуждение

Предыдущие исследования, проведенные Баггис и Чонг (Baggish, Chong) маточных труб с помощью CO₂-лазера и с использованием сканирующего электронного микроскопа (СЭМ), показали, что латеральные термические повреждения зафиксированы на расстоянии до 1 мм от зоны воздействия. Однако плотность мощности в данном исследовании была более низкой (700 Вт/см²), диаметры точек были больше, а СЭМ выявил лишь поверхностные повреждения (1,5 мм). В последующих исследованиях на кроликах Беллина (Bellina) сравнивал разрезы, сделанные электрокаутером и CO₂-лазером, и установил, что CO₂-лазер наносит меньше повреждений. Повреждение тканей оценивали с помощью

оптического микроскопа, который не обладает достаточным увеличением или достаточным разрешением для оценки степени повреждения тканей на клеточном уровне.

Луциано и др. (Luciano et al.) показали, что глубина теплового повреждения тканей как маточных труб, так и матки была одинаковой при использовании CO₂-лазера и микроэлектрокаутера, что выразилось в образовании послеоперационных спаек в опытах с кроликами.

В данном исследовании лазер Nd-YAG использовали с 600 мм «обнаженным» волокном при высоких плотностях мощности (приблизительно 41 600 Вт/см²) и лазер КТР-532 (при 16 600 Вт/см²). В результате исследований обнаружили, что ткани подверглись самому сильному латеральному термическому повреждению, и даже большему, чем при использовании меньших плотностей мощности.

Этот результат отличается от результатов, полученных для CO₂-лазера, который вызывал меньшие латеральные термические повреждения при использовании высоких плотностей мощности, особенно при работе в переменном сверхимпульсном режиме, как отмечал Баггиш и др., что подтверждается и в настоящем исследовании. Что касается лазера КТР-532, то наилучшие результаты были получены при промежуточных плотностях мощности – между 1400 и 2800 Вт/см² (5 - 10 Вт при диаметре точки 0,6 мм). Электрокаутеры, которые работают в пределах от 0,4 до 1,5 МГц (от 400 000 до 1,5 миллионов оборотов в секунду), причиняют промежуточную степень латерального термического повреждения. Однако, судя по результатам, радиочастотные хирургические инструменты причиняют наименьшие повреждения по сравнению со всеми остальными использовавшимися инструментами (см. Табл. 1). Такой феномен можно объяснить, возможно, более высокой частотой у этого инструмента (от 3,8 до 4,0 МГц или от 3,8 до 4 миллионов оборотов в минуту). Поскольку создается впечатление, что диаметр режущего инструмента или диаметр лазерной точки влияют в некоторых случаях на распространение боковой теплоты, то вполне логично предположить, что если диаметр микроэлектрода, волокна или точки меньше, чем радиус распространения нагрева, то частота или излучение также могут быть меньше. Таким образом, с клинической точки зрения, при проведении разреза целесообразно использовать самый маленький возможный диаметр. Но это не единственный параметр, который следует учитывать, пытаясь выявить «наилучший инструмент», как показано в табл. 1.

Результаты настоящего исследования могут использоваться в клинической практике для выбора наилучшего инструмента в операциях по удалению фаллопиевых труб, особенно в репродуктивной хирургии, что, возможно, будет способствовать повышению рождаемости.

Резюме

Для определения степени латерального термического повреждения на клеточном уровне после проведения операции были взяты среды маточных труб для их изучения под сканирующим электронным микроскопом (СЭМ) и с помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). Операции проводили с использованием электромикрокаутера, радиомикрохирургии, лазеров CO₂, КТР-532 и Nd-YAG при различных плотностях мощности. Операции с использованием лазера Nd-YAG и волоконного лазера КТР-532 при высоких плотностях мощности дали самые сильные повреждения в результате бокового нагрева. Меньшую степень повреждения нанес лазер КТР-532 при использовании промежуточных плотностей мощности, а также микрокаутеры и CO₂-лазер при использовании высоких плотностей мощности. Наименьший вред был нанесен радиохирургическими инструментами.

Результаты этих наблюдений можно применять в клинической практике и учитывать их при выборе инструментария для консервативной операции на фаллопиевых трубах.