

І.В.Твердохліб¹
І.І.Малков²

¹ Дніпропетровська
державна медична
академія

² Науково-виробниче
підприємство „Медичні
системи і технології”
(Дніпропетровськ)

Ключові слова: експе-
риментальна вентральна
грижа, алопластика,
реакція і регенерація
тканин, мікроциркуля-
ція.

Надійшла: 26.01.2010
Прийнята: 14.05.2010

УДК 616-007.43:616-089.844-003.9-008.9

ЗМІНИ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПІСЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ПЛАСТИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДЕФЕКТУ ПЕРЕДНЬОЇ ЧЕРЕВНОЇ СТІНКИ У ЩУРІВ

Дослідження проведене у рамках науково-дослідної роботи „Аналіз нормального й аномального гістогенезу тканинних компонентів серцево-судинної системи людини та експериментальних тварин” (номер державної реєстрації 0105U007837).

Резюме. У цей час ведеться активний пошук способів підвищення ефективності алопластики вентральних гриж, проте залишаються мало вивченими структурно-функціональні зміни рубцевої і м'язової тканин у процесі їх реорганізації. Суттєву роль для розуміння структурно-функціонального стану передньої черевної стінки має аналіз взаємовідношень сполучної тканини з елементами гемомікроциркуляторного русла, а також конкретних механізмів реорганізації мікросудин з урахуванням динаміки перебудов м'язово-апоневротичних структур. Метою роботи є визначення динаміки структурно-функціональних перебудов мікросудинного компоненту у складі передньої черевної стінки після проведення алопластики вентрального експериментального дефекту за допомогою поліпропіленової монофіламентної сітки "Prolene". Кількісне морфологічне дослідження проводили протягом 1 року. Проведений аналіз процесів формування рубцевої тканини та перебудов структури м'язів передньої черевної стінки при пластиці експериментального дефекта дозволив виявити, що присутність поліпропіленового протезу у помірному ступені збільшує тривалість перебігу ранніх запальних процесів, проте у подальшому забезпечує адекватні і повноцінні структурні перебудови рубцевої та м'язової тканини, включаючи компоненти мікроциркуляції.

Морфологія. – 2010. – Т. IV, № 2. – С. 45-52.

© І.В.Твердохліб, І.І.Малков, 2010

Tverdokhlib I.V., Malkov I.I. Microcirculatory changes after the plastic reconstruction of experimental defect of the anterior abdominal wall in rats.

Summary. The active retrieval of methods for the increase of the efficiency of ventral hernia alloplasty is performed now; however the structural-functional changes of scar and muscle tissues during their reorganization are still little studied. The analysis of relationship of connective tissue with the hemomicrocirculation elements plays the important role for the understanding of the structural-functional condition of the anterior abdominal wall and also concrete mechanisms of reorganization of microvessels taking into account the dynamics of muscle-aponeurotic structures reconfiguration. The purpose of the current study was to determine the dynamics of structural-functional reconfiguration of microcirculatory component in the anterior abdominal wall after alloplasty of experimental ventral defect with the polypropylene monofilament net "Prolene". The quantitative morphological analysis was carried out during 1 year. The analysis of scar tissue formation and muscles reconfiguration in the anterior abdominal wall after plastic reconstruction of experimental defect allowed to reveal that the presence of polypropylene prosthetic device increases the duration of early inflammatory processes in a moderate degree, providing, however, adequate and full structural reconfiguration of scar and muscle tissue in the future, including microcirculation components.

Key words: experimental ventral hernia, alloplasty, tissue reaction and regeneration, microcirculation.

Вступ

Проблема пошуку нових методів пластики вентральних гриж обумовлена недостатнім післяопераційним ефектом хірургічного лікування вентральних гриж. Основу проблеми лікування вентральних гриж складає надійне закриття дефекту у склеротично зміненій і атрофованій м'язово-апоневротичній тканині передньо-бокової стінки живота, чого можливо досягти двома шляхами: методом аутопластики, або за допомо-

гою використання алопластики (Піотрович С.М., Фелештинський Я.П., 1997). У сучасній літературі достатньо розкритий і обґрунтований метод аутопластики. Більш перспективним на сьогоднішній день є метод алопластики (Тоскин К.Д., Жебровский В.В., 1990; Веронский Г.И., 2000). Однак багато авторів відзначають значний розвиток після алопластики синтетичними полімерними матеріалами ускладнень з боку операційної рани у вигляді гематом, сером та запальних інфі-

льтратів (Черенько М.П., 1995; Седов В.М. и соавт., 1996). Проблему зменшення кількості цих ускладнень більшість хірургів вирішують шляхом використання різних алотрансплантатів без урахування питань реорганізації рубцевої тканини. На сьогоднішній день ведеться активний пошук способів підвищення ефективності алопластики вентральних гриж (Bolton M.A., 2003). Проте залишаються маловивченими структурно-функціональні зміни рубцевої тканини у процесі її реорганізації.

Ефективність алопластики післяопераційних гриж у великому ступені залежить від ряду неоднорідних факторів, що умовно можна розділити на чотири групи: 1) властивості алопластичного матеріалу; 2) адекватності вибору техніки оперативного втручання; 3) особливості протікання реакцій місцевих тканин у післяопераційному періоді; 4) врахування стану провідних системних характеристик – гемодинамічних, спірографічних тощо.

Аналіз зазначених факторів під час проведення хірургічного лікування післяопераційних гриж знайшов широке відображення в науковій літературі і сприяв досягненню значних успіхів в галузі герніології, однак сьогодні існує дуже обмежена кількість досліджень, що присвячені вивченню взаємодії цих факторів (Kingle U., 2002), а також аналізу впливу даної взаємодії на безпосередні та віддалені результати лікування.

Найбільш перспективними на сучасному етапі є ті дослідження, що передбачають попереднє експериментальне обґрунтування використання синтетичного протеза з наступною багатобічною клінічною оцінкою ефективності герніопластики (Mirzadeh H. et al., 1995; Beets G.L. et al., 1996). В даний час у літературі зустрічаються лише поодинокі публікації такого характеру (Clarke et al., 1996; Mayagoitia J.C., 2004); ще більш рідкими є клініко-експериментальні дослідження із застосуванням методів кількісної морфології з урахуванням різноманітних функціональних характеристик судинної системи, а також стану м'язово-апоневротичного апарата.

У більшості експериментальних робіт морфологічні критерії мають описовий характер, що не дозволяє адекватно оцінювати переваги та недоліки того чи іншого методу. На нашу думку, перспективним напрямом реалізації даної проблеми є виявлення якісних та кількісних морфологічних критеріїв, що характеризують процес загоєння рани та формування рубця з подальшим аналізом репаративних та реактивних властивостей тканинних компонентів при проведенні алопластики вентральних гриж. Крім того, суттєву роль для розуміння структурно-функціонального стану тканини має аналіз взаємовідношень сполучної тканини з елементами гемомікроциркуляторного русла, а також конкретних механізмів реорганізації судинного русла з урахуванням ди-

наміки перебудов м'язово-апоневротичних структур у складі передньої черевної стінки.

Метою роботи є визначення динаміки структурно-функціональних перебудов мікросудинного компоненту у складі передньої черевної стінки після проведення алопластики вентрального експериментального дефекту.

Матеріали та методи

Експериментально-морфологічне дослідження проводили на білих безпородних статевозрілих щурах-самцях масою 170-200 г. Контрольна (1) група дослідження складалася з 19 щурів, у яких висікали ділянку м'язово-апоневротичного шару черевної стінки розмірами 2×0,3 см по серединній лінії і пошарово ушивали дефект шляхом зближення країв рани. В експериментальній (2) групі у 29 тварин після висічення аналогічної ділянки й ушивання дефекту до зовнішнього м'язового шару фіксувалася поліпропіленова монофіламентна сітка "Prolene" розмірами 3×1,5 см з наступним відновленням шкірного покриву.

Морфологічне дослідження проводили через 3 доби, 10 діб, 1 місяць, 3 місяці і 1 рік після імплантації поліпропіленового протеза. Матеріал з ділянки пластики брали шляхом висічення після евтаназії тварини (Шалимов С.А. и соавт., 1989). Для морфологічного аналізу використовували ділянку передньої черевної стінки з розмірами, що на 2 см перевищували за площею розміри протеза.

При проведенні морфологічного дослідження тканинних і клітинних структур передньої черевної стінки на гістологічних зрізах керувалися загальними принципами стереометричного аналізу, викладеними Г.Г.Автанділовим (1990). При проведенні математичного аналізу отриманих результатів розрахунки виконували відповідно до рекомендацій Г.Ф.Лакіна (1990) при використанні відповідних прикладних програм.

Результати та їх обговорення

При вивченні зразків тканини у зоні виникнення рубця після проведення пластики дефекту у тварин контрольної та експериментальної груп було встановлено, що процес загоєння має чіткий фазовий характер та відповідає загальним етапам формування рубця. Гістоморфологія першої фази – травматичного запалення – характеризувалася значною нейтрофільною інфільтрацією тканини, гіперплазією судин мікроциркуляції, посиленою серозною ексудацією (рис. 1, 2).

Суттєву роль для розуміння структурно-функціонального стану тканини має аналіз взаємовідношень сполучної тканини з елементами гемомікроциркуляторного русла, а також конкретних механізмів реорганізації судинного русла з урахуванням динамік найбільш важливих стереологічних характеристик. Виходячи з цього, нами, окрім різного роду диференціальних гістологічних методів вивчення загальної морфології мік-

роциркуляторного русла, проведений аналіз динаміки наступних стереологічних параметрів: відносного об'єму гемокапілярів, їх поверхневої щільності, чисельної щільності. Вибір вказаних характеристик є необхідним, оскільки відображає сутність трансформацій гемомікроциркуляторного русла, пов'язаних з його редукцією, процесами неоваскулогенезу, а також суттєвою реорганізацією архітекτονіки гемокапілярів.

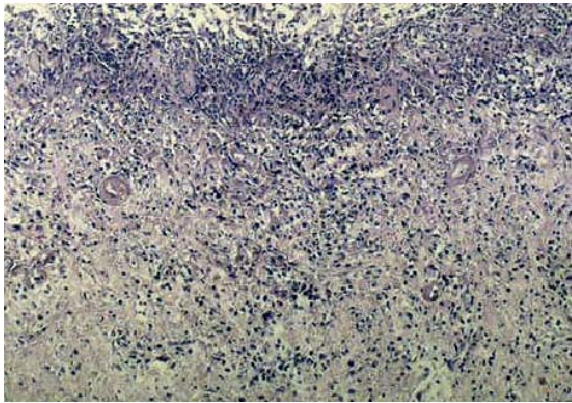


Рис. 1. Ділянка рубцевої тканини у складі передньої черевної стінки щурів контрольної групи на 3-ю добу після оперативного втручання. Забарвлення за Вейгертом. $\times 100$.

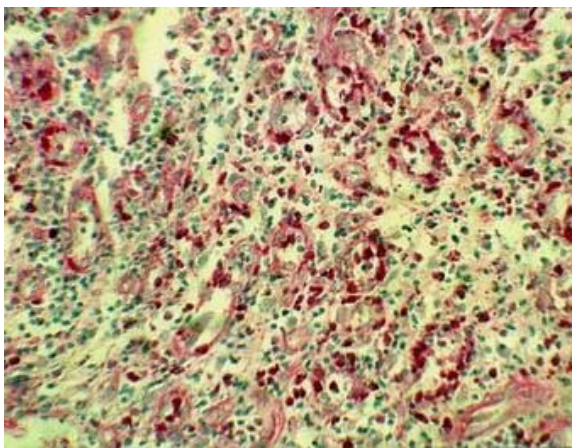


Рис. 2. Ділянка рубцевої тканини у складі передньої черевної стінки щурів експериментальної групи на 3-ю добу після оперативного втручання. Забарвлення за Ганзенном. $\times 100$.

Вивчення мікроциркуляторного русла на тканинному рівні у зоні формування рубцевої тканини на початкових стадіях перебігу раньового процесу встановило найбільш низький рівень усіх вивчених параметрів. Так, значення відносного об'єму гемокапілярів на 3 добу склали $0,049 \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$ та $0,043 \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$; поверхневої щільності капілярів - $0,102 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$ та $0,117 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$; відносної кількості капілярів - 3825 мм^{-2} та 3634 мм^{-2} (відповідно для контрольної та експериментальної груп). Морфологічна кар-

тина характеризувалася присутністю повнокровних судин на фоні нейтрофільної інфільтрації та посиленої серозної ексудації периваскулярних просторів. Цілісність судинної стінки у більшості випадків не була порушена, не дивлячись на небагаточислені дрібноосередкові крововиливи.

Для другої фази загоєння рани (формування грануляційної тканини) було характерним новоутворення числених гемокапілярів та їх ріст. Розмір, форма, діаметр просвіту гемокапілярів значно варіювали. У зонах росту судин ендотеліальні клітини мали значну щільність та містили численні мітотичні фігури. Ендотеліальні тяжі у більшості випадків не мали просвіту, склалися з поліморфних ендотеліоцитів з округлими ядрами, що відповідає їх функціональній незрілості. Новоутворені гемокапіляри були розміщені хаотично, не мали чіткої орієнтації, орієнтуючись часто паралельно ходу волокон фібрину. Є необхідність відмітити присутність значної кількості фібробластів, що концентрувалися уздовж судин гемомікроциркуляторного русла (рис 3, 4).

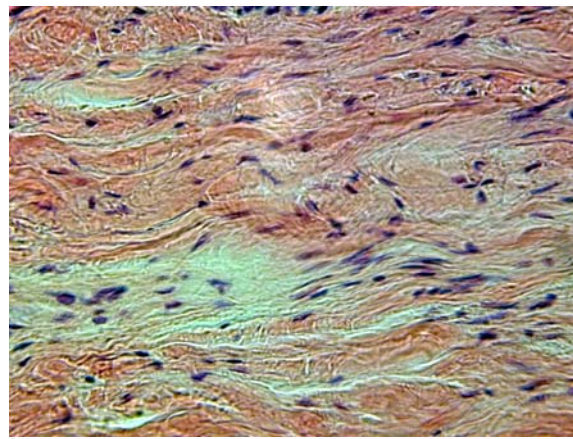


Рис. 3. Ділянка рубцевої тканини у складі передньої черевної стінки щурів контрольної групи на 10-у добу після оперативного втручання. Забарвлення за Ганзенном. $\times 400$.

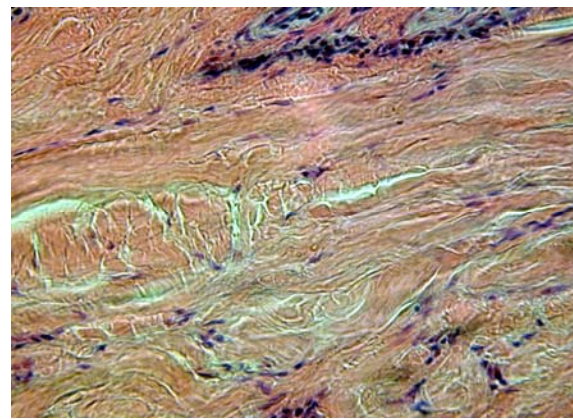


Рис. 4. Ділянка рубцевої тканини у складі передньої черевної стінки щурів експериментальної групи на 10-у добу після оперативного втручання. Забарвлення за Ганзенном. $\times 400$.

Кількісний стереологічний аналіз на 10 добу після оперативного втручання виявив тенденцію до незначного зростання значень відносного об'єму гемокапілярів (рис. 5) та їх поверхневої

щільності (рис. 6), у той час як параметри відносної кількості гемокапілярів (рис. 7) зростали майже у 2,5 рази та склали 7581 мм^{-2} та 7316 мм^{-2} для 1 та 2 груп відповідно.

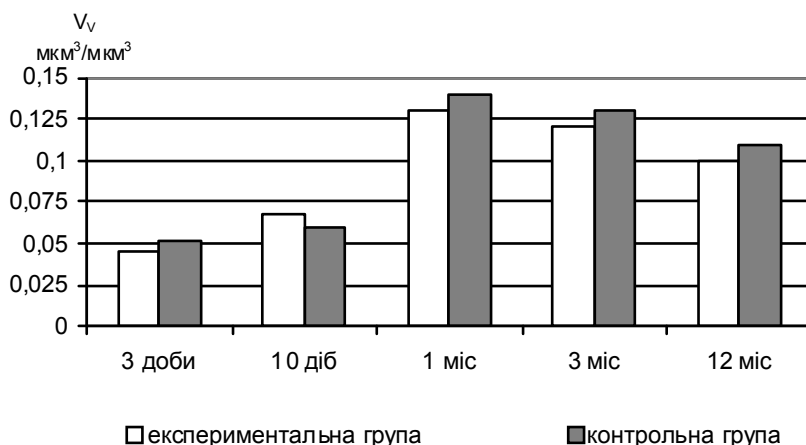


Рис. 5. Динаміка змін відносного об'єму гемокапілярів рубцевої тканини у передній черевній стінці щурів контрольної й експериментальної груп.

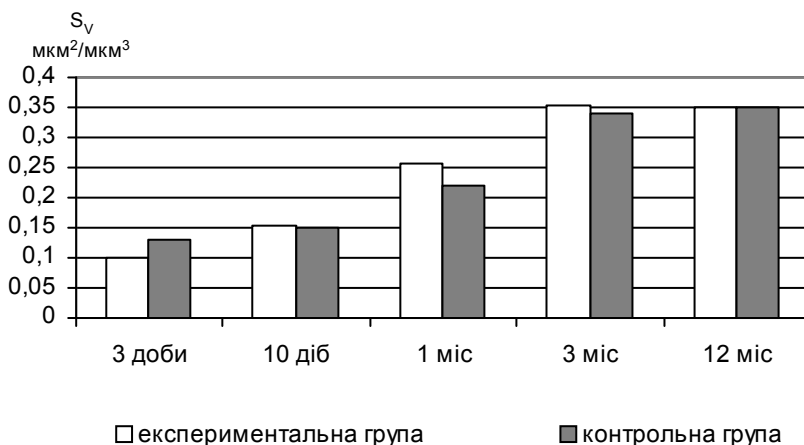


Рис. 6. Динаміка змін поверхневої щільності гемокапілярів рубцевої тканини у передній черевній стінці щурів контрольної й експериментальної груп.

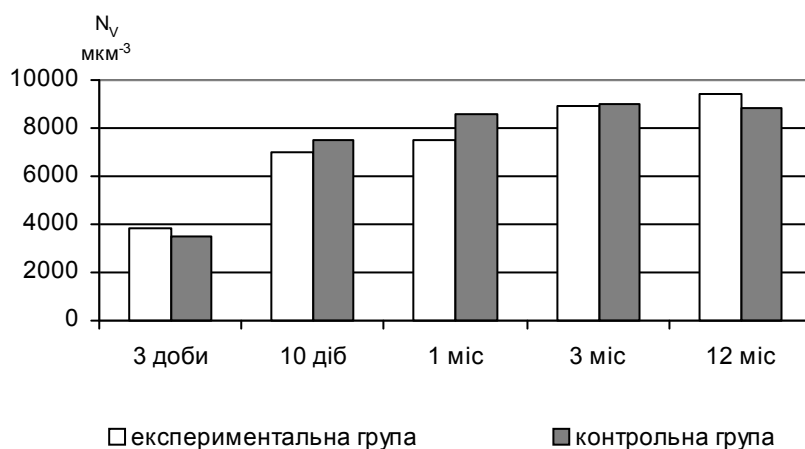


Рис. 7. Динаміка змін чисельної щільності гемокапілярів рубцевої тканини у передній черевній стінці щурів контрольної й експериментальної груп.

Встановлена невідповідність однозначно вказує на те, що активні процеси неоваскулогенезу (збільшення кількості гемокапілярів) відбуваються на фоні функціональної незрілості мікросудинного компоненту та є підготовчим етапом для переходу до продуктивної фази реорганізації рубцевої тканини.

Від 10 до 30 доби на фоні реорганізації компонентів сполучної тканини, що супроводжується значною активізацією біосинтетичних процесів формування волоконних структур, відмічалася тенденція до різкого зростання величин відносного об'єму гемокапілярів (0,133 мкм³/мкм³ та 0,143 мкм³/мкм³) та їх поверхневої щільності (0,271 мкм²/мкм³ та 0,234 мкм²/мкм³ відповідно для 1 та 2 груп). У той же час, показники кількісної щільності зростали незначно та свідчили про суттєве пригнічення процесів неоваскулогенезу. Гістологічна картина у даній фазі перебігу раннього процесу характеризувалася однорідністю гемокапілярів, появою впорядкованості їх орієнтації вздовж колагенових волокон (рис 8). Отже, для вказаного періоду характерні ознаки функціонального дозрівання гемомікроциркуляторного русла та його архітекtonіки, що обумовлює оптимальний перебіг процесів біосинтезу волоконних структур сполучної тканини.

Наступний етап (ремоделювання рубця) характеризувався стабілізацією параметрів, що відбивають стан мікросудинного компоненту зони рубця. Однак, слід зазначити деяке зниження величин відносного об'єму капілярів та їх кількісної щільності внаслідок редукції частини гемокапілярного русла у процесі регресії клітинних компонентів сполучної тканини (у першу чергу фібробластів).

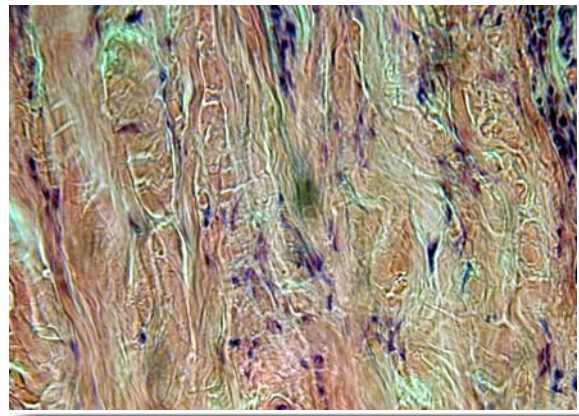


Рис. 8. Ділянка рубцевої тканини у складі передньої черевної стінки шурів експериментальної групи через 3 місяці після оперативного втручання. Забарвлення за Ганзенем. $\times 400$.

Порівняльна оцінка кількісних характеристик судинного русла у вивчених групах тварин встановила деяке відставання репаративних процесів у 2 групі у ранньому післяопераційному періоді, що, скоріше за все, обумовлено присутністю поліпропіленового протезу у зоні запалення; у подальшому параметри вивчаємих динамік в обох групах зрівноважувалися та виявляли схожі тенденції.

Для оцінки впливу поліпропіленового трансплантату на морфо-функціональні показники м'язової тканини нами був проведений морфологічний аналіз структурно-функціональних характеристик м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки (рис 9, 10). Слід підкреслити, що можливі патологічні зміни м'язового каркасу розглядаються більшістю хірургів як основна причина невдалих результатів герніопластики та рецидивів післяопераційних гриж.

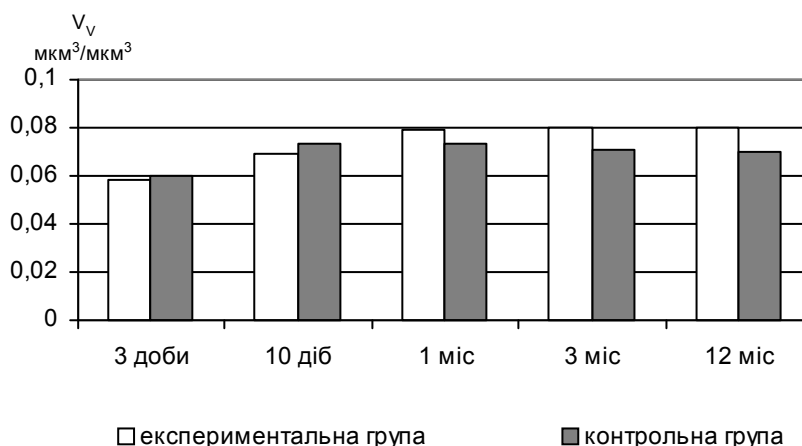


Рис. 9. Динаміка змін відносного об'єму гемокапілярів у складі м'язового шару передньої черевної стінки шурів контрольної й експериментальної груп.

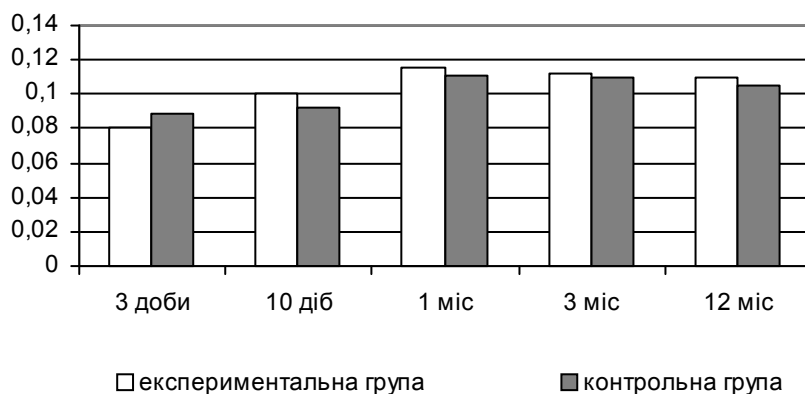


Рис. 10. Динаміка об'ємного співвідношення гемокапілярів та м'язових волокон у складі м'язового шару передньої черевної стінки шурів контрольної й експериментальної груп.

При вивченні гістоморфології м'язової тканини в обох досліджуваних групах тварин визначені зміни, що за своїм характером можуть бути співставлені між собою, та які характеризувалися ознаками помірної серозної ексудації на фоні інтактної структури м'язових волокон. Останні на поперечних зрізах відмежовувалися одне від одного тонкими прошарками сполучної тканини (ендомізієм) з численними гемокапілярами (рис 11-13).

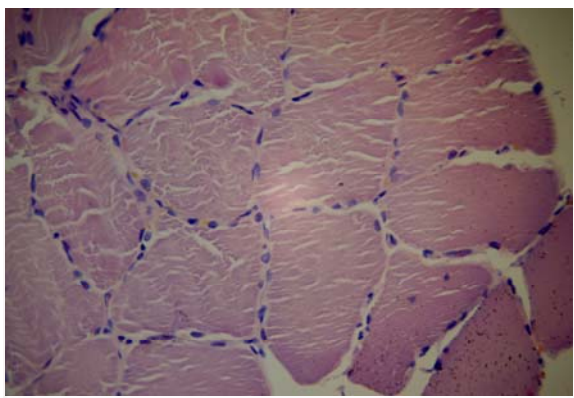


Рис. 11. Ділянка м'язової тканини у складі передньої черевної стінки шурів контрольної групи на 10-у добу після оперативного втручання. Забарвлення гематоксилином-еозином. $\times 400$.

Групи м'язових волокон, що були орієнтовані паралельно одна одній, формували м'язові пучки, які у деяких випадках орієнтувалися у різних напрямках (рис. 14). Значення відносного об'єму гемокапілярного русла складало $0,061 \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$ та $0,056 \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$ відповідно для контрольної та експериментальної груп. Об'ємні відношення у цей період мали свої характерні особливості. Об'ємне відношення капілярів до м'язових волокон мало найменші значення на всіх етапах експерименту ($0,091$ та $0,086$ відповідно).

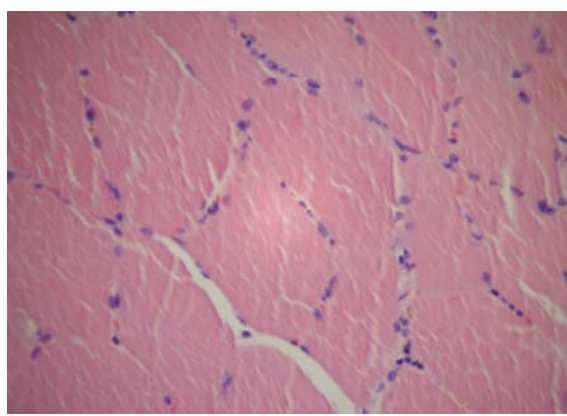


Рис. 12. Ділянка м'язової тканини у складі передньої черевної стінки шурів експериментальної групи на 10-у добу після оперативного втручання. Забарвлення гематоксилином-еозином. $\times 400$.

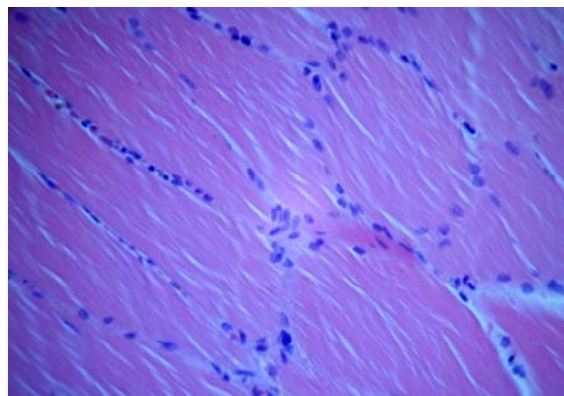


Рис. 13. Ділянка м'язової тканини у складі передньої черевної стінки шурів експериментальної групи на 30-у добу після оперативного втручання. Забарвлення гематоксилином-еозином. $\times 400$.

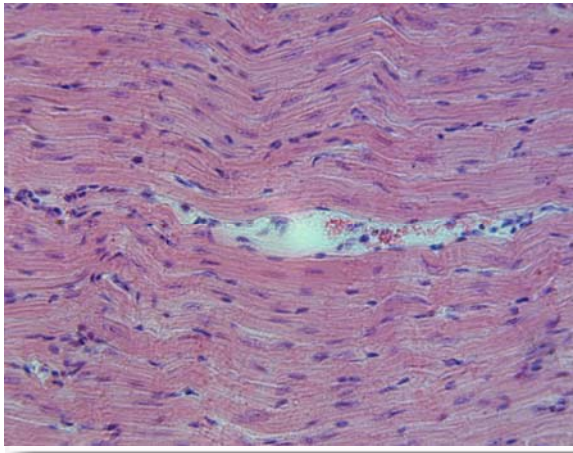


Рис. 14. Ділянка м'язової тканини у складі передньої черевної стінки щурів експериментальної групи через 3 місяці після оперативного втручання. Забарвлення гематоксиліном-еозином. ×400.

Морфометричний та стереологічний аналіз м'язової тканини експериментальних тварин на наступних етапах дослідження (від 10 доби післяопераційного періоду до 1 року) не виявив будь-яких вагомих морфологічних ознак,

пов'язаних зі змінами морфо-функціонального стану м'язово-апоневротичного апарату. Слід зазначити, що в експериментальній групі тварин (пластика з використанням протезу) відносний об'єм гемокапілярів та його похідні перевищували відповідні величини для контрольної групи, що обумовлювалося, головним чином, більш інтенсивними процесами реорганізації мікроциркуляторних компонентів м'язової тканини у відповідь на присутність синтетичного матеріалу.

Підсумок

Проведений кількісний морфологічний аналіз процесів, які відбуваються у тканинах після пластики експериментального дефекта, дозволив виявити, що присутність поліпропіленового протезу у помірному ступені збільшує тривалість перебігу ранніх запальних процесів, проте у подальшому забезпечує адекватні і повноцінні структурні перебудови рубцевої та м'язової тканини, включаючи компоненти мікроциркуляції.

Перспективи подальших розробок

пов'язані з порівняльним дослідженням морфологічних особливостей тканинних компонентів передньої черевної стінки при проведенні різних варіантів пластики експериментальних дефектів.

Літературні джерела

- Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : [руководство] / Г. Г. Автандилов. - М. : Медицина, 1990. - 384 с.
- Веронский Г. И. Применение никелид-титановых сплавов при пластике передней брюшной стенки / Г. И. Веронский // Вестн. хир. им. И. И. Грекова. - 2000. - № 5. - С. 92-96.
- Лакин Г. Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов / Г. Ф. Лакин. - [4-е изд.]. - М. : Высшая школа, 1990. - 352 с.
- Піотрович С. М. Обґрунтування способу хірургічного лікування великої післяопераційної грижі живота / С. М. Піотрович, Я. П. Фелештинський // Клін. хір. - 1997. - № 7. - С. 38-40.
- Піотрович С. М. Обґрунтування способу хірургічного лікування великої післяопераційної грижі живота / С. М. Піотрович, Я. П. Фелештинський // Клін. хір. - 1997. - № 8. - С. 38-40.
- Седов В. М. Операции при паховых грыжах из преперитонеального доступа с протезированием брюшной стенки эксплантами / В. М. Седов, Л. В. Лебедев, С. Д. Тарбаев // Вестн. хир. им. И. И. Грекова. - 1996. - № 3. - С. 33-36.
- Тоскин К. Д. Грыжи брюшной стенки / К. Д. Тоскин, В. В. Жебровский. - [2-е изд.]. - М. : Медицина, 1990. - 272 с.
- Черенько М. П. Хирургическое лечение больных грыжами / М. П. Черенько // Брюшные грыжи. - К. : Здоров'я, 1995. - С. 13-28.
- Шалимов С. А. Руководство по экспериментальной хирургии / С. А. Шалимов, А. П. Радзиховский, Л. В. Кейсевич. - М. : Медицина, 1989. - 272 с.
- Beets G. L. Foreign body reactions to monofilament and braided polypropylene mesh used as preperitoneal implants in pigs / G. L. Beets, P. M. Go, H. van Mameren // Europ. J. Surg. - 1996. - Vol. 162, № 10. - P. 823-825.
- Bolton M. A. Measuring outcomes in plastic surgery: body image and quality of life in abdominoplasty patients / M. A. Bolton // Plast. Reconstr. Surg. - 2003. - Vol. 112, № 2. - P. 619-625.
- Cell attachment to laser-induced AAm- and HEMA-grafted ethylene-propylene rubber as biomaterial: in vivo study / H. Mirzadeh, A. A. Katbab, M. T. Khorasani [et al.] // Biomaterials. - 1995. - Vol. 16, № 8. - P. 641-648.
- Intestine submucosa and polypropylene mesh for abdominal wall repair in dogs / K. M. Clarke, G. C. Lantz, S. K. Salisbury [et al.] // J. Surg. Res. - 1996. - Vol. 60, № 1. - P. 107-114.
- Kingle U. Functional and morphological evaluation of a low-weight, monofilament polypropylene mesh for hernia repair / U. Kingle // J. Biomed. Mater. Res. - 2002. - Vol. 64, № 2. - P. 129-136.
- Mayagoitia J. C. Inguinal hernioplasty with the Prolene Hernia System / J. C. Mayagoitia // Hernia. - 2004. - Vol. 8, № 1. - P. 64-66.

Твердохлеб И.В., Малков И.И. Количественная оценка тканевых перестроек после проведения пластики экспериментального дефекта передней брюшной стенки у крыс.

Резюме. В настоящее время ведется активный поиск способов повышения эффективности аллопластики вентральных грыж, однако остаются мало изученными структурно-функциональные изменения рубцовой и мышечной тканей в процессе их реорганизации. Существенную роль для понимания структурно-функционального состояния передней брюшной стенки имеет анализ взаимоотношений соединительной ткани с элементами гемомикроциркуляторного русла, а также конкретных механизмов реорганизации микрососудов с учетом динамики перестроек мышечно-апоневротических структур. Целью работы является определение динамики структурно-функциональных перестроек микрососудистого компонента в составе передней брюшной стенки после проведения аллопластики вентрального экспериментального дефекта с помощью полипропиленовой монофиламентной сетки "Prolene". Количественное морфологическое исследование проводили в течение 1 года. Проведенный анализ процессов формирования рубцовой ткани и перестроек структуры мышц передней брюшной стенки при пластике экспериментального дефекта позволил обнаружить, что присутствие полипропиленового протеза в умеренной степени увеличивает продолжительность хода ранних воспалительных процессов, однако в дальнейшем обеспечивает адекватные и полноценные структурные перестройки рубцовой и мышечной ткани, включая компоненты микроциркуляции.

Ключевые слова: экспериментальная вентральная грыжа, аллопластика, реакция и регенерация тканей, микроциркуляция.