

УДК: 617-089+616.24-089.853+616.24+616.25+572.7
© Бойко В.В., Шкурят А.Н., Горголь Н.И., 2010

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИСТОМОРФОЛОГИИ ШВА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА НАЛОЖЕНИЯ МЕЖТРАХЕАЛЬНОГО АНАСТОМОЗА

Бойко В.В.^{1,2}, Шкурят А.Н.¹, Горголь Н.И.²

ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины»¹; Харьковский национальный медицинский университет²

Бойко В.В., Шкурят А.Н., Горголь Н.И. Экспериментальні особливості гістоморфології шва в залежності від способу накладання міжтрахеального анастомозу // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №1. – С. 10-12.

У роботі представлені експериментальні особливості морфологічних змін зони міжтрахеального анастомозу, в залежності від методики його накладання, в різні терміни післяопераційного періоду.

Ключові слова: рубцевий стеноз трахеї, міжтрахеальний анастомоз.

Бойко В. В., Шкурят А.Н., Горголь Н.И. Экспериментальные особенности гистоморфологии шва в зависимости от способа наложения межтрахеального анастомоза // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №1. – С. 10-12.

В работе представлены экспериментальные особенности морфологических изменений зоны межтрахеального анастомоза, в зависимости от методики его наложения, в различные сроки послеоперационного периода.

Ключевые слова: рубцовый стеноз трахеи, межтрахеальный анастомоз.

Boyko V.V., Shkurat A.N., Gorgol N.I. Experimental features of histomorphology the stitch depending on the method of imposing intertracheals anastomosis // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №1. – С. 10-12.

The paper presents the experimental features of the morphological changes in the zone intertracheal anastomosis, in depending on the method of its imposition, in various terms of post operational period.

Key words: tracheal stenosis, intertracheal anastomosis.

Проблема рубцовых стенозов гортани и трахеи до сих пор не может считаться разрешенной, но методы их лечения постоянно совершенствуются. Современные достижения торакальной хирургии выдвинули ряд вопросов, требующих конкретного решения. Таковым является рубцовый стеноз трахеи. Частота развития рубцовых стенозов трахеи, по данным разных авторов, в настоящее время колеблется от 1,2 до 22,2% [1].

Количество послеоперационных осложнений также остается высоким и достигает 13,4-19,8 %. В связи с вышеизложенным, отмечается необходимость проведения расширенных экспериментальных и клинических исследований, направленных на изучение морфологических изменений рубцовых поражений трахеи, определения оптимального объема предоперационной подготовки и оперативного лечения [2].

Целью данного исследования было сравнительное морфологическое изучение в различные сроки послеоперационного периода, в эксперименте, репаративных процессов в области анастомоза при моделировании различных методик межтрахеального соустья у половозрелых кроликов.

Материал и методы. Для осуществления поставленных целей был проведен эксперимент на лабораторных половозрелых кроликах весом 1500,0-1700,0г, которых разделили на 2 группы. 1-ая группа (группа сравнения) составила 14 кроликов. 2-ая группа наблюдений (основная группа) также составила 14 кроликов. Экспериментальным животным провели операцию рассечения трахеи. Животным контрольной группы производили наложение межтрахеального анастомоза традиционным способом. Группе животных основной группы зону рассечения после наложения межтрахеального анастомоза укрепляли полипропиленовой сеткой («Сеткой»).

При работе с экспериментальными живот-

ными мы руководствовались требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.1986 р.), Статусу Української асоціації біоетики та нормами GLP (1992 р.), відповідно до вимог та норм ІСН С8Р (2002 р.), типових положень з питань етики МОЗ України № 28 від 01.11.2000 р. [3].

Експерименти проведені в виварині ГУ «ІОНХ АМН України».

Выводили животных из эксперимента на 14-е и 21-е сутки: по 7 животных в каждой группе. После выведения животных из эксперимента забирали отдел трахеи из зоны операции. Полученный материал фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина. По окончании проводки материал заливали в парафин, после чего изготавливали серийные срезы толщиной 4-5x10⁻⁶м. Обзорные препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовали для общей оценки состояния исследуемых тканей. Окрашивание препаратов пикрофусином по методу Ван Гизон использовали для выявления и дифференцировки соединительнотканых структур. Для оценки функциональной активности тканей использовали гистохимические методики. Так, нейтральные мукополисахариды и кислые ГАГ в тканях выявляли с помощью реакции ШИК+Хейл (комбинация окрашивания препаратов альциановым синим и ШИК-реакции по Мак Манусу Хочкису). РНК определяли на срезах окрашенных по Браше, контролем служил раствор кристаллической рибонуклеазы при температуре 37°C[4].

Гистологические и гистохимические методики выполняли по прописям, изложенным в руководствах по гистологической технике и гистохимии [4].

Изучение микропрепаратов проводили на микроскопе Olympus VX-41 (Япония) с последующим видеомикроскопическим фотографированием.

Весь полученный в результате проведенного морфологического исследования цифровой массив данных обрабатывался методами математической статистики с использованием вариационного анализа. При использовании методов вариационной статистики вычисляли среднюю арифметическую, степень дисперсии, среднеквадратическое отклонение, среднюю ошибку разницы, вероятность различия. Вероятность различия между двумя средними при малых выборках определяли по таблице Стьюдента с соблюдением условия (n_1+n_2-2) . При определении степени вероятности допускали точность $p < 0,05$, что, как известно, соответствует $P > 95,0\%$ [5].

Результаты и их обсуждение. У лабораторных животных **первой группы** на 14 сутки в прилежащей к межтрахеальному анастомозу зоне отмечалось образование грануляционной ткани, которая распространялась на собственную пластинку слизистой оболочки, подслизистую и мышечную оболочки. Сосуды грануляционной ткани представлены тонкостенными, умеренно полнокровными сосудами капиллярного типа с тонкими, ШИК-позитивными базальными мембранами. Клеточный состав грануляционной ткани представлен нейтрофильными гранулоцитами, немногочисленными макрофагами, периваскулярно в ней обнаруживались фибробласты, а также тучные клетки, лимфоциты и плазмоциты

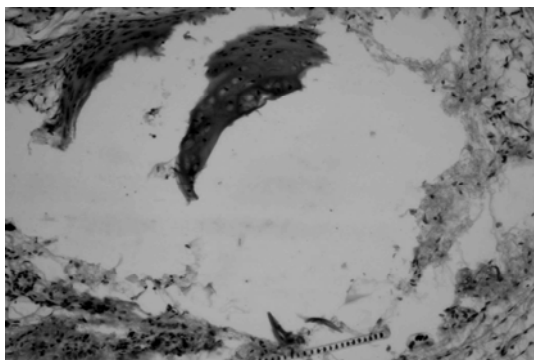


Рисунок 1. В зоне анастомоза определяется дефект, затрагивающий все слои трахеи с разрушением хряща. Группа сравнения. Окраска гематоксилином и эозином. X 100

В части наблюдений определялась несостоятельность анастомоза во всех слоях трахеи с практически полным разрушением хряща (Рис.1). Восстановление нарушенной целостности хряща к 14 суткам не наступало ни в одном из наблюдений. Края хрящевой раны были представлены первоначальным хрящом, имели закругленные, как бы «оплывшие» края, окружены островками грануляционной ткани. К 14-м суткам в мышечном слое регенерации не завершалась. Адвентициальная оболочка гортани, представленная рыхлой соединительной тканью, к 14-м суткам полностью восстанавливалась.

На 21 сутки в зоне межтрахеального анастомоза отмечалось разрастание грануляционной ткани, местами с формированием гипергрануляций.

В слизистой оболочке эпителиальный покров восстанавливался полностью. В подслизистой оболочке заживление происходило с образова-

нием соединительнотканного рубца. В части наблюдений в межтрахеальном анастомозе определялись дефекты. Восстановление нарушенной целостности суставного хряща к 21 суткам не наступало ни в одном из наблюдений. Между краями анастомоза в хрящевой части раны имел место выраженный диастаз. Регенерация в зоне рассечения хряща шла с образованием вокруг «островков» хрящевой ткани грануляционной, а позже – соединительной ткани.

В части наблюдений целостность трахеальных хрящей не восстанавливалась, между фрагментами хряща формировались значительные диастазы (Рис. 2).

В мышечной оболочке трахеи сохранялись дегенеративные изменения с истончением мышечных волокон.

Таким образом, в данной группе наблюдений раневый процесс в участке межтрахеального анастомоза к 14 суткам характеризовался образованием грануляционной ткани, которая имела тенденцию к формированию гипергрануляций, склонных к персистированию и вторичному воспалению.

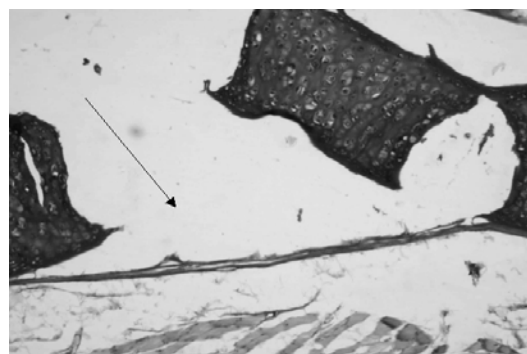


Рисунок 2. Нарушенная целостность трахеального хряща, значительный диастаз между фрагментами хряща (стрелка). Группа сравнения. 21 сутки. Окраска ШИК+Хейл. X 100.

Нередко межтрахеальный анастомоз имел признаки несостоятельности швов вследствие натяжения тканей. Во всех наблюдениях полный истинно-типичный репаративный хондрогенез не наблюдался, регенерация в хрящевой части раны шла лишь за счет формирования соединительнотканного рубца. В части наблюдений даже к 21 суткам между краями анастомоза имел место диастаз. Гипергрануляции способствовали формированию объемного соединительнотканного регенерата, нередко выступающего в просвет трахеи что, по нашему мнению, в будущем может быть причиной развития стенотических осложнений в трахее.

У лабораторных животных **второй группы** на 14 сутки грануляционная ткань с большим количеством умеренно полнокровных сосудов. Волокнистые структуры грануляционной ткани тонкие, хаотично расположенные.

«Сетка» определялась в виде стекловидных голубых округлых и овальных структур, окруженных, как «футлярами», грануляционной тканью. По мере удаления от элементов «сетки» усиливалось ШИК-позитивное окрашивание, что свидетельствует о процессах коллагенизации (созревании) грануляционной ткани (Рис.3).

Слизистая оболочка трахеи полностью восстанавливалась к 14 суткам. Регенерация слизистой

оболочки к 14-м суткам была полной, т.е. носила характер реституции. В зоне межтрахеального анастомоза заживление подслизистого слоя происходило с образованием небольшого соединительнотканного рубчика. Мышечная оболочка в зоне межтрахеального анастомоза характеризовалась слабо выраженными дегенеративными изменениями. Между краями анастомоза в хрящевой части раны имел место диастаз, заполненный рыхлой соединительной тканью. На **21 сутки** во всех наблюдениях в месте наложения межтрахеального анастомоза имело место восстановление стенки трахеи с сохранением всех ее слоев. Снаружи определялись элементы «сетки» (Рис. 4).

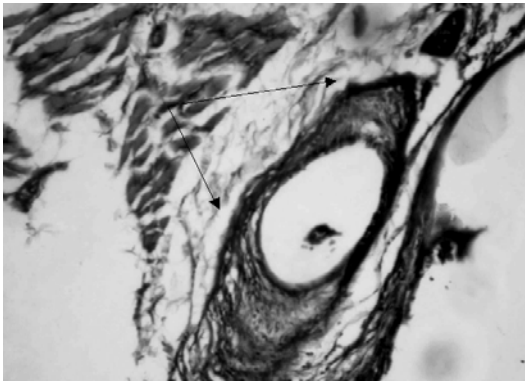


Рисунок 3. «Футляр» из созревающей грануляционной ткани (стрелки) вокруг «сетки». В глубоких отделах грануляционной ткани в небольшом количестве определяются кислые ГАГ (голубого цвета). Основная группа 14 сутки. Окраска ШИК+Хейл. X 100.

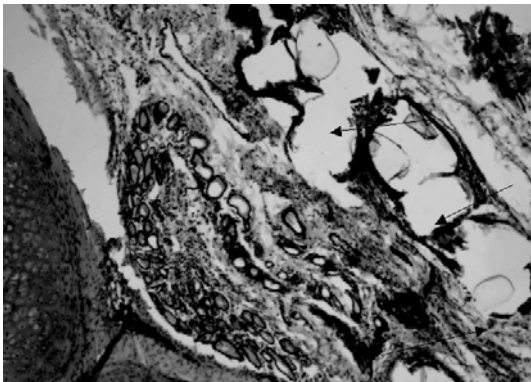


Рисунок 4. В участке межтрахеального анастомоза полное восстановление стенки трахеи с сохранением всех ее слоев. Снаружи определяются элементы «сетки» (стрелки). Основная группа. 21 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. X 50.

На месте грануляционной ткани в зоне межтрахеального анастомоза имело место образование молодой волокнистой соединительной ткани с функциональными пучками коллагеновых волокон и небольшим количеством соединительнотканых клеток. При этом в отличие от группы сравнения, объем соединительнотканного регенерата был небольшим, что выгодно отличает настоящие наблюдения от наблюдений предыдущей группы, т.к. не предрасполагает к развитию стенотических осложнений.

В краях хрящевой раны отмечалось разрастание волокнистой соединительной ткани. В мышце отсутствовали дегенеративные изменения, ее вос-

становление происходило с формированием тонкого соединительнотканного рубчика, т.е. носило характер субституции. В данной группе применение «сетки» ускоряло процесс коллагенообразования в межтрахеальном анастомозе и обеспечивало состоятельность анастомоза. В свою очередь хорошая герметичность анастомоза и плотное сопоставление хрящевых фрагментов способствовало гистотипической регенерации хрящевых колец трахеи: имело место разрастание фиброретикулярной ткани, в которой обнаруживались участки молодой незрелой хондронидной ткани.

Выводы: 1. В группе сравнения раневой процесс в большей части наблюдений характеризовался развитием гипергрануляций, склонных к персистированию и вторичному воспалению, а позднее (к 21-м суткам) – значительного по объему соединительнотканного регенерата, выступающего в просвет трахеи, что в будущем может быть причиной развития стенотических осложнений в трахее. В этой же группе между краями анастомоза длительно сохранялся диастаз, что свидетельствовало о процессах натяжения тканей и, как следствие, предрасполагало к «слабости» межтрахеального анастомоза. Во всех наблюдениях полный гистотипический репаративный хондрогенез не наблюдался.

2. При использовании аллопластического материала («сетка») раневой процесс характеризовался быстрой и последовательной сменой фаз воспаления с формированием полноценной грануляционной ткани, не склонной к развитию гипергрануляций и воспаления, и более ранней, в отличие от группы сравнения, трансформацией ее в соединительную ткань. Использование «Сетки» ускоряло процесс коллагенообразования в межтрахеальном анастомозе, что способствовало герметичности анастомоза и, как следствие, обеспечивало гистотипическую регенерацию хрящевой ткани.

Полученные результаты экспериментального исследования свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения методик профилактики несостоятельности анастомозов трахеи, и о *перспективности* данного направления в хирургическом лечении больных с рубцовыми стенозами трахеи.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Брюсов П.Г. Современные аспекты неотложной торакальной хирургии в ГКГ им. Н.Н. Бурденко / П.Г. Брюсов. // Воен.-мед. журн. - 2006. - Т. 327, № 5. - С. 13-18.
2. Торакальная хирургия: Руководство для врачей. / [Бисенков А.Н., Бебия Н.В., Гришаков С.В. и др.]; под ред. проф. Бисенкова А.Н. – СПб.: «ЭЛБИ - СПб», 2004. – 928 с.
3. Биоэтические аспекты клинической практики и научных исследований. [О.Н. Ковалёва, В.М. Лесовой, Т.Н. Амбросова, Н.И. Питецкая] – Х.: Торнадо, 2006. – 96 с.
4. Микроскопическая техника: Руководство / [Под ред. Д.С.Саркисова, Ю.А.Перова]. – М.: Медицина, 2006. – 544 с.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич – К.: «Морион», 2001. – 408 с.

Надійшла 14.12.2009 р.

Рецензент: проф. С.М.Смірнов