ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Воровський О.О., Сегеда Т.П.
УДК:617.55-007.43-089.844

ГРИЖОНОСІЙСТВО - ЦЕ НАСЛІДОК ВІКОВИХ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ІНВОЛЮЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ В СПОЛУЧНІЙ ТКАНИНІ ЧИ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ЕЛАСТИЧНИХ МІКРОФІБРИЛ?

Воровський О.О., Сегеда Т.П.
Обласний госпіталь для інвалідів Вітчизняної війни, м. Вінниця.
Інститут сорбції та проблем ендоекології НАН України, м. Київ.

В этой роботе за цель исследования поставлено изучение причины грижеобразования на уровне ультраструктурных изменений соединительной ткани и генетического полиморфизма фибриллярных белков. На наличие точечной мутации эластина (ELN) было обследовано 87 больных. Этот контингент был разделён на две группы. Основная группа состояла из 55 (63,2%) лиц с грыженосительством. Сравнительная группа - 32 (36,8%) без грыженосительства. 5 больным з грыжами различной локализации, где по возрасту один был молодого, а 4 – пожилого и престарелого, было проведено электроно-микроскопическое исследование апоневроза и поперечной фасции. Проведённые исследования свидетельствуют, что в патогенезе развития грыжевой болезни в результате электроно-микроскопического исследования установлено, что у больного-грыженосителя молодого возраста снижение механических свойств соединительной ткани проявилось за счёт уменьшения количества фибриллярного компонента эластических волокон и дезкомплексацией коллагеновых волокон с формированием многочисленных щелей. Для пациентов пожилого и престарелого возраста, кроме этого, характерными есть склеротические, дистрофические, атрофические и инволюционные изменения всех структурных элементов соединительной ткани. Весомым значением есть точечная мутация в 20 экзоне g28197A>G аллели, что есть причиной нарушения прочности и упругости эластических микрофибрилл. Этот генетический полиморфизм причастен к большой достоверности развития грыжевого дефекта у гомозиготных (GG) пациентов, а при сочетании с возрастными дегенеративными процессами – у гетерозиготных (AG).

Ключевые слова: грижа, апоневроз, фасция, мутация, эластин, коллаген.

Дане дослідження є фрагментом комплексної програми Вінницького національного медичного університету МОЗ України "Розробити та експериментально обґрунтувати нові методи хірургічного лікування захворювань органів черевної порожнини" (№ держрегістрації 0101U006801).

Актуальність

Серед хірургічних втручань перше місце займають операції з приводу гриж передньої черевної стінки, щорічно їх виконують понад 20 мільйонів, що складає 10-20% від всіх оперативних втручань [3]. З віком частота грижоносіїв зростає, і в осіб похилого та старечого віку складає від 42,4-45,0% до 60-65% [2]. В даній віковій категорії спостерігається особливо велика кількість рецидивів, де тільки при первинних грижесіченнях складає 40-80,5% [1]. Більшість авторів відзначають, що при наданні допомоги хворим похилого та літнього віку (ПСВ) хірург зіштовхується з проблемою якісної та кількісної неповноцінності передньої черевної стінки з вираженими патологічними та атрофічно-дегенеративними змінами апоневротичних та м'язових утворень в ділянці грижового дефекту, з різким порушенням мікроциркуляції [5,7], або, як ще називають, з "хворобою колагенового матриксу" та "колагенової недостатності" [9]. На їх думку, у патогенезі недиференційованої дисплазії сполучної тканини визначну роль відіграють не вікові мофологічні дистрофічні зміни, а порушення синтезу її структурних білків, в першу чергу колагену та еластину. За їх ствердженням, дефіцит в архітектоніці сполучної тканини колагену I та III типу призводить до розвитку не локальних дефектів передньої черевної стінки, а, так званої, грижової хвороби [4,6].

Встановлено, що еластичні волокна складаються з мікрофібрил еластину, які й несуть відповідальність за стійкість та пружність фасції. На зниження кількості мікрофібрил в колагенових та еластинових волокнах, можливо впливають ще невідомі генетичні фактори, а саме мутації в гені AHO [8] та виділили ще один фак-

тор ризику грижоутворення, а саме – генетичний поліморфізм фібрилярних білків [4,8].

Мета дослідження

Вивчити причини грижоутворення на рівні ультраструктурних змін сполучної тканини та генетичного поліморфізму фібрилярних білків у пацієнтів з грижоносійством та у осіб без грижової хвороби.

Матеріали та методи дослідження

На наявність точкової мутації еластину (ELN) було обстежено 87 хворих. Даний контингент був розділений на дві групи. Основна група складалась з 55 (63,2%) осіб з грижоносійством. Вік хворих коливався від 41 до 95 років, середній вік склав 80±4,0 років. За локалізацією пахвинні грижі склали 29 (52,7%) випадків, де рецидиви захворювання мали місце у 8 (14,5%) пацієнтів; пупкова грижа - 12 (21,8%), де рецидиви спостерігались у 4 (7,3%); грижа білої лінії живота – 10 (18,2%), де рецидиви спостерігались у 2 (3,6%); грижі іншої локалізації - 4 (7,3%), рецидиви захворювання були відсутні. Порівняльна група склала 32 (36,8%) особи. Вік хворих коливався від 36 до 86 років, середній вік склав 72 ±3,0 років. Грижоносійство у осіб даної групи були відсутнє. В обох групах серед супутньої патології були відсутні захворювання сполучної тканини.

Для визначення точкової мутації еластину (ELN) у всіх 87 хворих кров у розмірі 5мл забирали внутрішньовенно у пробірки типу “vacuette” з атикоагулянтним розчином ЕДТА 3,7 на тще серце з 8 по 9 години ранку. Досліджуваний матеріал зберігали та транспортували при температурі -5^{0}С. Дане дослідження проводилось на базі НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та їх фармокогенетики (ВДНЗУ “Українська медична стоматологічна академія”), м. Полтава (проф. Кайдашев І.П., к.мед.н. Шликова О.А.). Виділяли ДНК з лейкоцитів периферичної крові за допомогою набору “ДНК-експресс-кровь” (ЛиТех, Россия). Визначення поліморфізму гену еластину g28197A>G в exon 20 проводили методом алельспецифічної полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі з використанням специфічної пари праймерів та проб (“Синтол”, Россия).

Для електронномікроскопічного (ЕМ) аналізу зразки, отримані під час хірургічного втручання, подрібнювали до розміру 1 мм^3, фіксували впродовж 1,5 години в розчині, який містив 2,5% глютаральдегід і 2% параформ на 0,1 М какодилатному буфері (рН 7,4), промивали в тому ж буфері впродовж 12 годин, дофіксовували в 2% розчині чотириокису осмію 1,5 години, зневоднювали у спиртах висхідної концентрації та ацетоні і заливали в епон. На ультрамікротомі LKB 8800 III виготовляли напівтонкі зрізи (1-2 мкм), забарвлювали їх метиленовим синім на 1% розчині бури. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом й цитратом свинцю. Препарати вивчали та фотографували під електронним мікроскопом JEM 100 CX (Японія). Дане дослідження проводили на базі Інституту сорбції та проблем ендоекології НАН України, м. Київ (зав. відділом проф. Терещенко В.П., с.н.с к.мк.н. Сегеда Т.П.). В дослідженні проаналізовано клітинну та субклітинну організацію зразків апоневрозу та фасцій, отриманих від хворих:1) Р.– 23 р.; 2) С.– 71 р.;3) Г – 71 р.; 4) Н – 67 р.; 5) Г-к В.І. – 81 р.

Результати та їх обговорення

Хворий Р. (23 р.) Фасція. Показовим дефектом сполучної тканини ми вважаємо формування розколин поміж щільно розташованих колагенових фібрил. У нашому спостереженні фібрилярний компонент еластичних волокон був слабко представлений (рис. 1). Еластичні волокна у вигляді гілчастих розгалужень та покручених структур, розташовувались поміж колагенових волокон, які кількісно переважали (рис. 2).

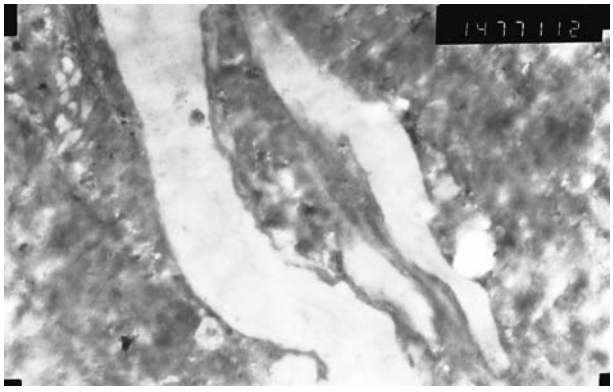

Рис. 3. Мала кількість фібрилярних структур еластичних волокон у фасції хворого Р. Х 14 000.

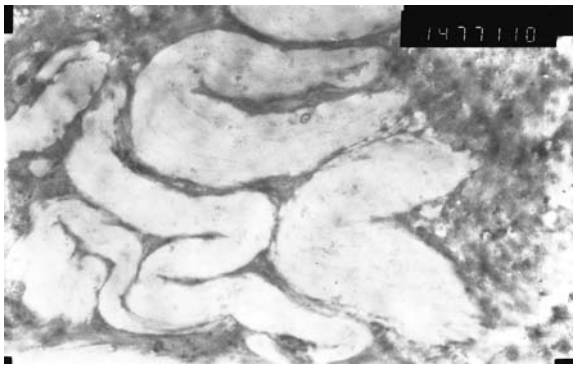

Рис. 2. Покручені еластичні волокна у фасції хворого Р. Х 14 000.

Апоневроз. Встановлено, що кількість еластичних волокон була ще меншою, ніж в останній. Для них також була характерною незначна кількість мікрофібрил в аморфному матеріалі цих волокон (рис. 3).

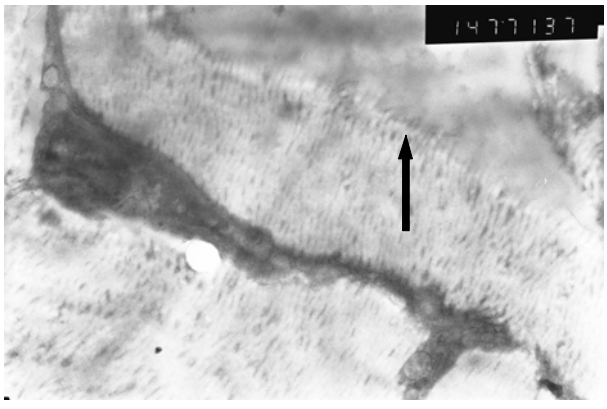

Рис. 3. Незначна кількість мікрофібрил в еластичному волокні (стрілка) апоневрозу хворого Р. Х 14 000.

Хворі ПСВ. Фасція. При ЕМ дослідженні встановлено, що при збереженості типової структури колагенових фібрил, в багатьох ділянках досліджених зразків фасцій всіх хворих цієї групи зустрічались зони з хаотичним заляганням фібрил або з відокремленням та дистанціюванням колагенових волокон. Зустрічались щілини між волокнами сполучної тканини, а також зони з деструкцією колагену, його розволокненням, накопиченням зернистих та аморфних мас в ділянках фібриноїдних змін. Серед особливостей організації еластичних волокон в групі хворих ПСВ, окрім зменшення кількості мікрофібрил, слід зазначити дезорганізацію цих структур, що призводило до фрагментації їх компонентів – аморфного і мікрофібрилярного матеріалів (рис. 4).

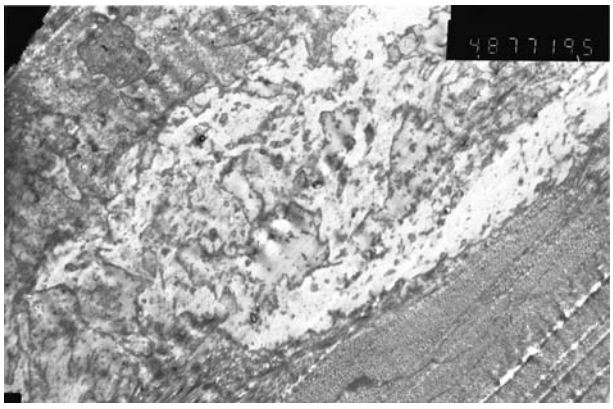

Рис. 4. Дезорганізація і фрагментація еластичного волокна в сполучній тканині фасції хворого Г-к. Х 4 800.

Апоневроз. Еластичні волокна були значно менш численними. Колагенові волокна мали зони заповнені зруйнованими колагеновими фібрилами, які набували вигляду зернистих чи аморфних мас.

З'ясовано, що еластичні властивості даної тканини залежать від синтезу тропоеластину, який багатий неполярними амінокислотами, що створюють гідрофобний міцний домен. Якщо є мутація, то порушується дозрівання тропоеластину за рахунок зниження міцності гідрофобних зв'язків. Встановлено, що точкова мутація в 20 екзоні g28197A>G алелі викликає в складі еластину амінокислотну заміну S442G в гідрофобній ділянці [12]. Хворих у нашому досліджені ми аналізували на наявність саме даної мутації.

Із 55 хворих основної групи дана мутація зустрічалась у 13 хворих (23,6%), із них рецидив захворювання мав місце у 6 (46,2%) випадках, де 4 (7,3%) були гомозиготи (GG), а 9 (16,4%) – гетерозиготи (AG). В той же час в порівняльній групі точкова мутація спостерігалась в 3 (9,4%) випадках, де 1 (3,1%) - гомозиготи (GG), а 2 (6,3%) – гетерозиготи (AG). Таким чином отримали достовірну різницю ($p<0,05$) частоти даної мутації між основною групою, куди увійшли хворі з різною локалізацією гриж і та контрольною групою, де грижова патологія була відсутня. Також слід відзначити високий відсоток (46,2%) пацієнтів в даній групі з рецидивним перебігом хвороби.

Висновок

Проведені дослідження свідчать, що в патогенезі розвитку грижової хвороби в результаті ЕМ дослідження встановлено, що у хворого-гриженосія молодого віку зниження механічних властивостей сполучної тканини проявилось за рахунок зменшенням кількості фібрилярного компоненту еластичних волокон та дезкомплексацією колагенових волокон з формуванням численних щілин. Для пацієнтів ПСВ, окрім того, характерними є склеротичні, дистрофічні, атрофічні й інволюційні зміни всіх структурних елементів сполучної тканини. Вагоме значення має точкова мутація в 20 екзоні g28197A>G алелі, що стає причиною порушення міцності та пружності еластичних мікрофібрил. Цей генетичний поліморфізм причетний до великої вірогідності розвитку грижового дефекту у гомозиготних (GG) пацієнтів, а при поєднанні з віковими дегенеративними процесами – у гетерозиготних (AG).

Література

1. Гибало Р.В. Спосіб лікування пахвинних гриж / Р.В.Гибало, М.О.Бежевець, Г.В.Кудінов та ін. // Материалы науч.-прак. конференции "Современные методы хирургического лечения вентральных грыж и эвентраций" 27-28 сентября 2006 г. Алушта 2006; С. 51-52.
2. Жебровский В.В. Хирургия грыж живота / В.В. Жебровский // Москва, 2005. 381 с
3. Манойло М.В. Лікування двобічної пахвинної грижі / М.В. Манойло // Клінічна хірургія. – 2006. - № 8. – С34-36.
4. Милиця К.М. Грижова хвороба: патогенез та діагностика / К.М.Милиця, М.М.Милиця, Ю.Д.Торопов // Львівський медичний часопис. - 2009. - №3. – С. 17-19.
5. Павленко В.В. Хирургическое лечение паховой грыжи у больных пожилого и старческого возраста / В.В. Павленко // Клиническая геронтология. – 2006. - № 6. - С. 18-21.
6. Смирнова М.Ю. Недеференцированные дисплазии соединительной ткани и их значение в акушерско-гинекологической практике / М.Ю.Смирнова, Ю.И.Строев, Д.А. Ниаури и др. // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2006. - № 4. – С. 95-104.
7. Шулутко А.М. Некоторые геронтологические аспекты хирургического лечения паховых и пупочных грыж / А.М. Шулутко // Клиническая геронтология. – 2006. - № 6. – С. 3-6.
8. Rodrigues Jr.A.J. Quantitative analysis of collagen and elastic fibers in transversalis fascia in direct and indirect inguinal hernia / Jr.A.J.Rodrigues, C.J.Rodrigues, A.C.P.Cunha, J.H.Yoo // Rev. Hosp.Clin. Fac. Med. S Paulo. – 2002. - Vol 57. – P. 265-270/
9. Zheng H. Recurrent inguinal hernia: disease of the collagen matrix / H.Zheng, Z.Si, R.Kasperk // Wold. J. Surg. – 2002. Vol. 26, № 4. – P. -401-408.

Summary

IS HERNIA A CONSEQUENCE OF AGE-RELATED DEGENERATIVE INVOLUTIONAL PROCESSES IN THE CONNECTIVE TISSUE OR GENETIC POLYMORPHISM OF ELASTIC MICROFIBRILS?

O.O. Vorovsky, T.P. Segeda

Key words: hernia, aponeurosis, fascia, mutation, elastin, collagen.

The aim of the research was to study the causes of hernia formation at the level of ultrastructural alterations in connective tissue and genetic polymorphism of fibrillar proteins. The presence of point mutation of elastin (ELN) was examined in 87 patients. They were divided into two groups. The main group consisted of 55 (63.2%) individuals with hernia. The comparison group consisted of 32 (36.8%) individuals without hernia. Among 5 patients with hernias of different localization (one of them was younger than the four others) electronics microscopic study of the aponeurosis

and the transverse fascia was performed. The performed electronic microscopic studies displayed that in the younger hernia patient the decrease of connective tissue mechanical properties was manifested by the reduction in the amount of elastic fibers fibrillar component and discomplication of collagen fibers with formation of numerous of gaps. Elderly patients, in addition, have the characteristic sclerosis, degenerative, atrophic and involutional changes of the structural elements of connective tissue. Significant value is the point mutation in 20 exon g28197A> G allele, which is the cause of disorders of the strength and resilience the elastic microfibrils. This genetic polymorphism is implicated to a great confidence of the hernial defect in homozygous (GG) patients, and when combined with age-related degenerative processes – in heterozygous (AG).

Institute for Sorption and Problems of Endoecology National Academy of Sciences of Ukraine
Regional hospital for Great Patriotic War Veterans, Vinnytsia.

Матеріал надійшов до редакції 20.04.2012 р.