© Гнатюк М.С., Гощинський В.Б., Назарчук С.А., Боровик І.О., 2011

УДК 616.34-001.4-089.844:599.731.1-035.51]-071.3

МОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОІМПЛАНТАТІВ НА ЗАГОЄННЯ КИШКОВОЇ РАНИ

М.С.Гнатюк, В.Б.Гощинський, С.А.Назарчук, І.О.Боровик

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського

Резюме. Наведена морфометрична характеристика впливу ліофілізованих ксенодермоімплантатів на загоєння кишкової рани у щурів. Установлено їхній позитивний вплив на рановий процес.
Ключові слова: кишковий шов, ліофілізовані ксенодермоімплантати, морфометрія.

Серед актуальних задач абдомінальної хірургії важливе місце посідає проблема неспроможності кишкових швів (КШ). Ускладнення в ранньому післяопераційному періоді після резекцій та реконструктивних операцій на порожнистих органах черевної порожнини мають місце в 19-25 % спостережень, з них у 0,4-8 % спостережень виникає неспроможність швів анастомозу, що призводить до розвитку гнійно-септичних процесів у черевній порожнині [1-4]. Імовірність неспроможності КШ при формуванні анастомозів в умовах "компрометованої" кишкової стінки збільшується при перитоніті та кишковій непрохідності [5, 6]. Так, неспроможність КШ в умовах зміненої кишкової стінки на тлі перитоніту після операцій на шлунку та дванадцятипалій кишці має місце у 1,5-3 % спостережень, після операцій на тонкій кишці – у 2,8-8,7 %, після операцій на товстій кишці – у 4-32 % [7, 8]. Летальність при неспроможності швів анастомозу досягає 70 % [9]. З метою попередження неспроможності КШ та анастомозів поряд із удосконаленням техніки їх формування пропонується використання синтетичних та біологічних матеріалів, за допомогою яких збільшується міцність анастомозів і їх біологічна герметичність [10-12].

За останні роки сформувався перспективний науковий напрямок, присвячений попередженню розвитку неспроможності кишкових анастомозів, який полягає у використанні біологічно активних матеріалів, здатних підсилювати регенеративні процеси у ділянці сформованих КШ. У цьому плані вельми привабливим є використання ліофілізованих ксенодермоімплантатів, які мають високу біологічну активність за рахунок значного вмісту у них колагену, 70% структурних білків (ретикулін, еластин, кератин), широкого спектру амінокислот, а також поліпептидного епідермального фактора росту, макро- і мікроелементів.

Мета дослідження: дати морфометричну оцінку впливу ліофілізованих ксенодермоімплантатів на загоєння тонкокишкових анастомозів в експерименті.

Матеріал і методи. *Експериментальні дослідження проведені на 40 статевозрілих білих щурах лінії "Wistar" в умовах віварію Тернопільського медуніверситету згідно з відповідними методичними принципами експериментальної хірургії. Для виявлення особливостей регенераторних процесів у ділянці сформованого КШ тварини розділені на 2 групи: контрольна (20 щурів), у якій був сформований однорядний вузловий КШ; основна (20 щурів), у якій був сформований КШ, укріплений клаптем ліофілізованого ксенодермоімплантата та фіксований до поверхні кишки вузловими серозно-серозними швами (атравматична голка 6,0).*

Для морфологічних досліджень вирізали шматочки кишки в межах анастомозу, які фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну і після відповідного проведення в етилових спиртах зростаючої концентрації за-ливали в парафін. Мікротомні зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, за методами ван Гізон, Маллорі, Вейгерта. При дослідженні мікропрепаратів використовували мікроскопи МБИ-6, МБИ-15, "Люмам Р- 8". Проводили гістостереометрію на гістологічних препаратах з використанням методик і рекомендацій Г.Г.Автанділова [13]. На гістологічних зрізах порожньої кишки вимі-

рювали артерії середнього (51-125 мкм) та дрібного (25-50 мкм) калібрів, визначали зовнішній та внутрішній діаметри судин, товщину медії, індекс Вогенворта (відношення площі стінки до її просвіту), висоту, діаметр ядер ендотеліоцитів і ядерно-цитоплазматичні відношення та відносний об'єм ушкодження цих клітин. При морфометрії стінки порожньої кишки враховували товщину слизової, м'язової, серозної оболонок та підслизової основи, підслизово-слизовий та підслизово-м'язовий індекси, довжину, ширину ворсинок, глибину і ширину крипт, висоту покривних епітеліоцитів, діаметр їхніх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення в них, відносний об'єм уражених епітеліоцитів. Статистичне оброблення результатів проведено за допомогою програм "Microsoft Excel": оцінювали середні значення (M), їх стандартні відхилення (m), вірогідність статистичних показників за t-критерієм Ст'юдента.

Результати дослідження та їх аналіз. Установлено, що в змодельованих експериментальних умовах морфометричні показники досліджуваних судин змінювалися. Так, зовнішній діаметр артерій середнього калібру порожньої кишки на 7-му добу експерименту збільшився з 86,7±2,4 до 91,1±2,7 мкм, тобто на 6,3 % ($p>0,05$). Внутрішній діаметр артерій середнього калібру порожньої кишки зменшився з 54,8±0,9 до 49,6±1,2 мкм ($p<0,01$). При цьому останній морфометричний параметр виявився меншим за попередній на 9,5 %. Товщина медії досліджуваних судин зросла з 19,3±0,24 до 20,65±0,27 мкм, тобто на 6,9 %. Наведені цифрові величини між собою статистично вірогідно ($p<0,01$) відрізнялися. Індекс Вогенворта цих судин збільшився з 247,4±4,5 до 341,5±6,3, тобто на 93,8 %. У змодельованих експериментальних умовах зміненими виявилися також просторові характеристики ендотеліоцитів досліджуваних судин та їхніх ядер. Так, висота ендотеліоцитів судин порожньої кишки на 7-му добу вірогідно зро-сла з 6,2±0,15 до 6,6±0,12 мкм, тобто на 6,4 %. Діаметр ядер ендотеліоцитів збільшився з 3,6±0,03 до 4,01±0,03 мкм ($p<0,01$). При цьому останній морфометричний параметр перевищував попередній на 11,4 %. Нерівномірне зростання просторових характеристик ендотеліоцитів та їхніх ядер призводило до порушення співвідношень в цих клітинах між ядром та цитоплазмою. Так, ядерно-цитоплазматичне відношення в ендотеліоцитах артерій середнього калібру порожньої кишки у контрольних спостереженнях становило 0,337±0,006, а на 7-му добу експерименту – 0,37±0,004. Необхідно зазначити, що останній морфометричний показник виявився більшим за попередній на 9,8 % і статистично вірогідно ($p<0,01$) від нього від-різнявся. Відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів досліджуваних судин в цей період експерименту становив 14,8±0,39, а в контрольних спостереженнях – 2,1±0,06 % ($p<0,01$). При цьому попередній морфометричний параметр перевищував останній у 7,04 раза.

На 15-ту добу експерименту стан досліджуваних судин суттєво покращився. Так, зовнішній діаметр артерій середнього калібру порожньої кишки зменшився на 1,9 % порівняно з попередніми спостереженнями. Просвіт судин зріс з 49,6±1,2 до 52,1±0,9 мкм, тобто на 5,0 %, проте наведені цифрові величини між собою вірогідно не відрізнялися ($p>0,05$). В цих експериментальних умовах зменшувалася товщина медії артерій середнього калібру – з 20,65±0,27 до 20,2±0,3 мкм, тобто на 2,2 %, індекс Вогенворта знизився з 341,5±6,3 до 293,8±5,4, тобто на 47,7 % ($p<0,01$). Кількість пошкоджених ендотеліоцитів на 15-ту добу досліду також суттєво зменшилася. Так, відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів артерій середнього калібру на 7-му добу експерименту становив 14,8±0,39, а на 15-ту – 6,3±0,18 %, тобто зменшився ($p<0,01$) у 2,3 раза.

Товщина медії досліджуваних судин порожньої кишки збільшилася з 7,1±0,12 до 8,7±0,15 мкм, тобто на 15,5 %. Коефіцієнт Ст'юдента при порівнянні наведених цифрових величин дорівнював 5,7, що вказувало на те, що наведені морфометричні параметри між собою статистично ($p<0,01$) відрізнялися. Суттєво зростав індекс Вогенворта. Так, у контрольних спостереженнях даний морфометричний показник дорівнював 839,1±7,2, а на 7-му добу експерименту – 1257,5±32,7. Слід вказати, що останній морфометричний показник перевищував контрольний на 49,8 %. Просвіт артерій дрібного калібру на 7-му добу експерименту виявився звуженим. При цьому морфометричний показник зменшився з 12,6±0,9 до 10,8±0,12 мкм ($p<0,001$).

Установлено, що в досліджуваних експериментальних умовах змінювалася також струк-

тура ендотеліоцитів артерій дрібного калібру. Так, висота ендотеліальних клітин судин порожньої кишки у контрольних спостереженнях становила 6,1±0,18 мкм, а на 7-му добу досліду – 6,8±0,15 мкм. Необхідно зазначити, що остання цифрова величина статистично вірогідно ($p<0,05$) перевищувала попередню майже на 11,5 %. Діаметр ядер ендотеліоцитів у даних експериментальних умовах виявився більшим за аналогічний попередній на 17,5 %. Нерівномірне збільшення просторових характеристик цитоплазми ендотеліоцитів та їх ядер призводило до істотного порушення в них співвідношень між вказаними структурами. Так, ядерно-цитоплазматичне відношення у ендотеліоцитах артерій дрібного калібру контрольних спостережень становило 0,226±0,007, а на 7-му добу експерименту – 0,29±0,006. Установлено, що досліджуваний морфометричний показник на 7-му добу досліду істотно ($p<0,05$) збільшився – на 9,0 %. Відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів дрібного калібру на 7-му добу досліду становив 22,6±0,57 %. Дана цифрова величина перевищувала аналогічну контрольну у 9,4 раза. Отже, одержані результати свідчать, що на 7-му добу досліду структурна перебудова артерій дрібного калібру була більш вираженою порівняно з артеріями середнього калібру.

Морфометричними дослідженнями установлено, що на 15-ту добу експерименту структурні зміни дрібних артерій порожньої кишки були менш вираженими порівняно з попередніми спостереженнями. Так, зовнішній діаметр досліджуваних судин становив 37,2±0,45 мкм. Даний показник на 1,9 % перевищував аналогічний контрольний (36,5±0,3 мкм), проте статистично вірогідно від нього не відрізнявся. Внутрішній діаметр дрібних артерій порожньої кишки становив 11,9±0,15 мкм ($p<0,05$) і виявився меншим від контролю на 5,5 %.

Товщина медії та індекс Вогенворта виявилися більшими порівняно з контрольними спостереженнями. Так, товщина медії артерій дрібного калібру в цей період експерименту дорівнювала 7,6±0,12 мкм. Наведений морфометричний показник статистично вірогідно перевищував ($p<0,05$) контрольний (7,10±0,12 мкм). При цьому він виявився більшим за останній на 7,0 %. Індекс Вогенворта на 15-ту добу експерименту становив 97,2±8,4 %. Наведена цифрова величина суттєво ($p<0,001$) перевищувала контрольну (на 13,8 %). Висота ендотеліоцитів, діаметр їхніх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення в дрібних артеріях порожньої кишки на 15-ту добу експерименту статистично вірогідно не відрізнялися від аналогічних морфометричних параметрів контрольних спостережень. При цьому вони мали тенденцію до нормалізації, але ще не досягали рівня контрольних показників. Відносний об'єм уражених ендотеліоцитів дрібних артерій в даних експериментальних умовах зменшився з 22,6±0,57 до 6,3±0,15 %, тобто майже у 3,6 раза. Слід зазначити, що наведений останній морфометричний показник статистично вірогідно ($p<0,001$) відрізнявся від аналогічного показника контрольних спостережень і перевищував його у 2,6 раза.

На 7-му добу товщина слизової оболонки порожньої кишки збільшувалася з 372,6±7,2 до 432,9±10,2 мкм ($p<0,001$). При цьому останній морфометричний показник перевищував попередній на 16,2 %. Товщина підслизової основи зросла з 28,9±0,75 до 34,2±0,84 мкм, тобто на 18,3% ($p<0,01$). Товщина м'язової оболонки також виявилася збільшеною – з 86,0±2,4 до 97,1±2,4 мкм ($p<0,01$). Необхідно зазначити, що збільшення товщини м'язової оболонки порожньої кишки у змодельованих експериментальних умовах можна пояснити набряком, який виявлявся світлооптично. Товщина м'язової оболонки порожньої кишки через 7 діб виявилась збільшеною на 12,2 % порівняно з аналогічною контрольною величиною. Досліджуваний морфометричний параметр серозної оболонки зріс з 5,9±0,09 до 6,5±0,09 мкм, тобто на 10,1 % ($p<0,01$). Підслизово-слизовий індекс змінювався незначно (зріс лише на 2,6 %), а підслизово-м'язовий збільшився з 0,334±0,081 до 0,352±0,09, тобто на 5,3 %. Суттєвої різниці між цими морфометричними показниками не виявлено ($p>0,05$).

Довжина ворсинок в даних експериментальних умовах зменшилася з 210,6±4,5 до 191,2±4,2 мкм ($p<0,05$). При цьому останній морфометричний параметр зменшився порівняно з попереднім на 9,2 %. Ширина ворсинок виявилася збільшеною. Товщина ворсинок порожньої кишки при цьому збільшилася з 54,7±1,2 до 61,8±1,5 мкм ($p<0,001$). Глибина крипт статистично вірогідно ($p<0,01$) зросла з 101,6±2,1 до 127,6±3,3 мкм, тобто на 14,7 %. Висота покривних епітеліоцитів слизової оболонки порожньої кишки на 7-му добу експери-

менту збільшилася з 12,9±0,18 до 14,1±0,21 мкм, тобто на 9,3 % ($p<0,01$). Діаметр ядер досліджуваних клітин при цьому зріс з 3,8±0,09 до 4,78±0,12 мкм, тобто на 25,7 %. Також порушувалися ядерно-цитоплазматичні відношення в епітеліоцитах. Так, у контрольних спостереженнях вони становили 0,087±0,004, а на 7-му добу експерименту – 0,115±0,003, тобто даний морфометричний параметр виявився більшим за попередній на 32,2 % ($p<0,001$). Відносний об'єм уражених епітеліоцитів при цьому становив 36,7±0,9 % і переважав при цьому аналогічну контрольну цифру у 17,4 раза.

На 15-ту добу експерименту товщина слизової оболонки порожньої кишки дорівнювала 389,4±6,9 мкм, що перевищує аналогічний контрольний на 4,5 %. При порівнянні цих цифрових величин виявлено, що коефіцієнт Ст'юдента при цьому дорівнював 1,6, що вказувало на те, що суттєвої різниці між отриманими і контрольними морфометричними параметрами не виявлено.

Товщина підслизової основи досліджуваного органа у змодельованих експериментальних умовах становила 31,2±0,81 мкм. Даний морфометричний показник та аналогічний контрольний (28,9±0,75 мкм) між собою статистично вірогідно ($p<0,05$) відрізнялися. При цьому остання цифрова величина виявилася меншою за попередню на 7,9 %. Товщина м'язової оболонки порожньої кишки у досліджуваних спостереженнях дорівнювала 89,9±2,7 мкм, що перевищує аналогічну контрольну на 3,9 % ($p>0,05$). У змодельованих умовах експерименту товщина серозної оболонки порожньої кишки становила 6,1±0,12 мкм. Остання виявилася більшою на 3,4 % за аналогічний контрольний показник і суттєвої різниці ($p>0,05$) між наведеними величинами не виявлено.

Підслизово-слизовий індекс в цих експериментальних умовах істотно не відрізнявся від аналогічного контрольного показника. Підслизово-м'язовий індекс перевищував таку ж контрольну величину на 3,9 %. Статистично вірогідної різниці між досліджуваним морфометричним показником (0,347±0,081) та контрольним (0,334±0,081) не виявлено ($p>0,05$).

Довжина ворсинок порожньої кишки в цих експериментальних умовах становила 202,1±4,5 мкм. Необхідно зазначити, що даний морфометричний параметр статистично вірогідно не відрізнявся від контрольного. Ширина ворсинок порожньої кишки дорівнювала 57,9±1,5 мкм. Цей показник перевищував аналогічний контрольний (54,7±1,2 мкм) на 5,8 ($p>0,05$).

Глибина крипт порожньої кишки у досліджуваних спостереженнях дорівнювала 109,7±3,0 мкм. Між даною величиною і аналогічною контрольною (101,6±2,1 мкм) виявлена статистично вірогідна різниця ($p<0,05$). Необхідно також зазначити, що досліджуваний морфологічний параметр перевищував аналогічний контрольний на 7,9 %. Ширина крипт при цьому становила 28,0±0,54 мкм, що більше за контроль на 2,9 %. Між наведеним морфометричним показником та контрольним (27,2±0,54 мкм) не встановлено статистично вірогідної різниці.

Висота покривних епітеліоцитів слизової оболонки порожньої кишки становила 13,2±0,18 мкм. Дана величина перевищувала аналогічну контрольну на 2,3 % і статистично вірогідно від неї не відрізнялася. Необхідно вказати, що просторові характеристики ядер епітеліоцитів слизової оболонки порожньої кишки та ядерно-цитоплазматичні відношення в досліджуваних спостереженнях не відрізнялися від контрольних показників. Відносний об'єм пошкоджених епітеліоцитів в цей період експерименту ще становив 12,5±0,03 %. Даний морфометричний параметр перевищував контрольний у 5,9 раза. Гістологічно структура стінки тонкої кишки не відрізнялася від неушкодженого органа.

На 25-ту добу експерименту досліджувані морфометричні параметри стінки тонкої кишки статистично вірогідно не відрізнялися від аналогічних кількісних показників контрольних спостережень.

На основі морфометричних досліджень можна стверджувати, що в основній групі експериментальних тварин найбільш виражені структурно-фукціональні зміни у стінці тонкої кишки настають до 7-го дня післяопераційного періоду. Надалі структура тонкої кишки відновлюється і до 25-го дня набуває нормальних показників.

Висновок та перспективи подальших досліджень. 1. Морфометричне дослідження стінки тонкої кишки у ділянці сформованих кишкових швів (КШ) свідчить про те що, ліофілізовані ксенодермоімплантати покращують пе-

ребіг ранового процесу. 2. Одержані результати можуть бути основою для комплексної оцінки можливості застосування даного методу запобігання неспроможності КШ у клінічній практиці.

Література

1. Камінський І.В. Ранні післяопераційні гнійно-септичні ускладнення у хворих з абдомінальною хірургічною патологією (прогнозування і профілактика) / І.В.Камінський // Шпит. хірургія. – 2008. – № 4. – С. 30-33. 2. Пойда О.І. Прогнозування та профілактика внутрішньочеревних ускладнень при операціях на товстій кишці / О.І.Пройда, В.М.Мельник // Хірургія України. – 2010. – № 1. – С. 14-17. 3. Профилактика несостоятельности анастомозов полых органов желудочно-кишечного тракта (экспериментальное исследование) / О.В.Галимов, А.Ж.Гильманов, В.О.Ханов [и др.] // Хирургия. – 2008. – № 10. – С. 27-31. 4. Carter D.C. Omental reinforcement of intestinal anastomoses an experimental study in the rabbit / D.C.Carter, D.H.R.Jenkins, H.N.Whitfield // British J. of Surgery. – 2005. – Vol. 59, № 2. – P. 129-133. 5. Вільцанюк О.А. Порівняльна оцінка методів підвищення біологічної герметичності міжкишкових анастомозів / О.А.Вільцанюк // Клін. хірургія. – 2005. – № 11-12. – С. 69. 6. Лігоненко О.В. Профілактика неспроможності швів анастомозу при непрохідності кишечнику / О.В.Лігоненко // Клін. хірургія. – 2005. – № 11-12. – С. 85. 7. Бойко В.В. Пути предупреждения осложнений заживления тонкокишечных анастомозов / В.В.Бойко, В.П.Далавурин, С.А.Савви // IV міжнар. Пироговські читання. XXII з'їзд хірургів України: матер. наук. конгр., присв. 200-річчю з дня народж. М.І.Пирогова. – Вінниця, 2010. – С. 38. 8. Ермолов А.С. Выбор метода хирургического лечения обтурационной непроходимости при опухолях ободочной кишки / А.С.Ермолов, Э.П.Рудин, Д.Д.Оюн // Хирургия. – 2004. – № 2. – С. 4-7. 9. Проблема надежности кишечного шва при перитоните и кишечной непроходимости / В.А.Горский, Б.К.Шуркалин, А.П.Фаллер [и др.] // Трудный пациент. – 2005. – № 4. – С. 23-27. 10. Ибрагимов Р.М. Опыт применения биоэксплантата на основе модификации гиалуроновой кислоты для профилактики несостоятельности анастомозов полых органов (экспериментальное исследование) / Р.М.Ибрагимов // Бюлетень РАМН. – 2009. – № 6. – С. 19-23. 11. Современные клеевые композиции на основе α-цианкрилатов для хирургии / А.Г.Толстиков, Г.А.Толстиков, А.И.Воробьева [и др.] // Тр. регион. науч.-прак. семинара РФФИ. – Казань: УНИПРЕСС, 2002. – С. 142. 12. Черноусов А.Ф. Профилактика недостаточности анастомозов желудочно-кишечного тракта / А.Ф.Черноусов, Т.В.Хоробрих, О.Н.Антонов // Хирургия. – 2005. – № 12. – С. 25-29. 13. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Автандилов Г.Г. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЛИОФИЛИЗОВАННЫХ КСЕНОДЕРМОИМПЛАНТАНТОВ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ КИШЕЧНОЙ РАНЫ

Резюме. Приведена морфометрическая характеристика влияния лиофилизированных ксенодермоимплантантов на заживление кишечной раны у крыс. Установлено их положительное влияние на раневой процесс.

Ключевые слова: кишечный шов, лиофилизированные ксенодермоимплантанты, морфометрия.

MORPHOMETRIC ESTIMATION OF THE INFLUENCE OF LYOPHILIZED XENODERMOGRAFTS ON THE HEALIHG OF INTESTINAL WOUND

Abstract. A morphometric characteristic of the influence of lyophilized xenodermografts is on the healing of an intestinal wound in rats is presented. Their positive effect on the wound process is established.

Key words: intestinal suture, lyophilized xenodermografts, morphometry.

I.Ya.Horbachevskyi State Medical University (Ternopil)

Надійшла 16.07.2011 р.
Рецензент – проф. В.І.Півторак (Вінниця)