

УДК 616.26-091.8:616.381-003.219]-092.9  
DOI: 10.24061/1727-0847.23.4.2024.65

**М. Ю. Кріцак**

*Кафедра хірургії факультету післядипломної освіти (зав. – проф. І. Я. Дзюбановський) Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України*

## МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ РЕБРОВОЇ ЧАСТИНИ ДІАФРАГМИ ВИКЛИКАНІ ПНЕВМОПЕРИТОНЕУМОМ ПОМІРНОГО ТИСКУ У ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Резюме.** Лапароскопія, одна з мінімально інвазивних процедур, є широко використовуваною процедурою для діагностики та лікування різних видів клінічних проблем. Пневмоперитонеум при лапароскопії викликає зміщення діафрагми на 1,0-3,0 см у бік плевральної порожнини і може викликати проблеми в органах і тканинах після операції. А чи міняється морфологічна структура діафрагми?

**Мета.** Дослідити гістологічну структуру ребрової частини діафрагми після створеного внутрішньочеревного тиску вуглекислим газом упродовж різного часу.

**Матеріал і методи.** Експериментальне дослідження виконане на 40-а тваринах, яких розподілили на 4 групи по 10 щурів в кожній. I група – інтактна група, яким не моделювалась жодна патологія, використовувалась як показник норми морфологічної картини. II група – створений пневмоперитонеум на протязі 1 години, III група – створений пневмоперитонеум на протязі 3 годин і IV група – створений пневмоперитонеум на протязі 5 годин. Після чого відбиралась потрібна частина діафрагми.

**Результати.** Отримані дані морфології інтактною групи свідчили про ознаки властиві цій групі м'язів. У II групі виявляли м'язові волокна з чіткою поперечною посмугованістю, розташовані компактно, спостерігалась варіабельність за товщиною, приймали хвилеподібне розташування. У III групі тварин поперечна посмугованість візуалізується фрагментарно, ядра розташовуються не рівномірно з дислокацією до центру. Спостерігались ознаки венозного повнокров'я. Сполучна тканина розрихлена набряком, присутні малоінтенсивні клітинні інфільтрати в складі яких переважали лімфоцити і гістіоцити. При дослідженні матеріалів IV групи тварин спостерігалось поглиблення деструктивних змін. М'язові волокна розташовані компактно, але межі не чіткі. Еозинофільні ділянки чергуються із гіпохромними, місцями розпад саркоплазми та міоцитоліз. Повнокровність вен і капілярів, присутній розподільчий лейкоцитоз.

**Висновок.** Встановлено, що пневмоперитонеум на рівні 5 мм.рт.ст. призводить до появи деструктивних змін ребрової частини діафрагми порівняно із інтактною групою. Вираженість цих змін залежить від тривалості інтраабдомінального тиску створеного в даній моделі експерименту.

**Ключові слова:** пневмоперитонеум, вуглекислий газ, експеримент, щурі, діафрагма.

Лапароскопія – одна з мінімально інвазивних процедур, є широко використовуваною процедурою для діагностики та лікування різних видів клінічних проблем. Порівняно зі звичайною лапаротомією переваги лапароскопічної хірургії включають: зменшення хірургічної рани; зменшення післяопераційного болю; скорочення терміну перебування в лікарні; швидке відновлення та кращий косметичний результат [1-3]. Проте від 35 % до 80 % пацієнтів, за даними різних авторів, після лапароскопічної операції скаржаться на біль і потребують знеболення, так званий «френікус синдром», який виникає внаслідок негативного впливу пневмоперитонеуму (ПП) створеного вуглекислим

газом на діафрагму [1]. Багато авторів припускає, що біль виникає через морфологічні та біохімічні зміни очеревини та діафрагми, які на даний час недостатньо вивчені [2, 4].

ПП при лапароскопії викликає зміщення діафрагми на 1,0-3,0 см у бік плевральної порожнини. Спостерігається механічне стиснення легень, зменшення об'єму легень та ателектаз переважно в її базальних відділах [4]. ПП створений впродовж короткого часу під час лапароскопії може викликати проблеми в органах і тканинах після операції. Було припущено, що збільшений внутрішньочеревний тиск (ВЧТ) внаслідок ПП може викликати гіперперфузію та підвищення резистентності

органів і тканин до венозного повернення [5-7]. Після десуфляції ПП, ішемія-реперфузія може виникнути травма через відновлення кровотоку. Збільшення ВЧТ може вплинути на заочеревинні органи, не кажучи вже про органи інтраперитонеального розміщення, в тому числі діафрагму [5, 7]. Внутрішньочеревний тиск від 7 до 15 мм.рт.ст. зазвичай використовують під час лапароскопії. У пацієнтів, яким проводились лапароскопічні операції, паренхіматозний кровообіг значно зменшувався, особливо це стосується коли ВЧТ перевищує 10 мм.рт.ст. [1, 3, 5].

Тому ми припустили, що екскурсія діафрагми зменшиться в найближчому періоді після ПП. Виникає питання, а як міняється чи не міняється морфологічна структура частин діафрагми за умови низького та стандартного тиску під час лапароскопії, і як впливає тривалість карбоксиперитонеуму на цей орган.

**Мета дослідження:** дослідити гістологічну структуру ребрової частини діафрагми після створеного внутрішньочеревного тиску вуглекислим газом упродовж різного часу.

**Матеріал і методи.** Для проведення експериментального дослідження були відібрані статевозрілі білі щури віком 6 місяців та масою тіла  $225,0 \pm 20,0$  г у кількості 40 особин, яких утримували в умовах віварію на базі Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства Охорони Здоров'я України. Усіх тварин розподілили на 4 групи по 10 штук в кожній наступним чином: I група – інтактна група, яким не моделювалась жодна патологія, використовувалась як показник норми морфологічної картини; II група – створений ПП на протязі 1 години; III група – створений ПП на протязі 3 годин; IV група – створений ПП на протязі 5 годин.

Перед моделюванням ПП вуглекислим газом усіх тварин знечулювали за допомогою Кетаміну (90 мг/кг) і Ксилазину (10 мг/кг), методом внутрішньом'язової ін'єкції. У II, III і IV групах проводили створення карбоксиперитонеуму на рівні 5 мм.рт.ст, згідно авторського свідоцтва на твір № 126409 від 16 травня 2024 року [8], інсуфлятором KARL STORZ electronic laparoflator 264300 20. На інсуфляторі встановлювали відповідний рівень тиску в черевній порожнині та швидкість подачі вуглекислого газу на рівні 0,1 л/хв упродовж 1, 3 та 5 годин відповідно до номера групи. Згідно літературних джерел рівень тиску у 10 мм.рт.ст. на щурі відповідає тиску 15 мм.рт.ст. у людей. Нами вибрано в два рази нижчий тиск так як, згідно останніх досліджень впливу КП на організм людини, рекомендовано використовувати нижчий тиск, який за-

безпечує хорошу оглядовість в черевній порожнині і маніпуляції інструментами не є обмеженими, а саме 7 мм.рт.ст.

Дослідження проводилися в першій половині дня в приміщенні при температурі 18-20 °С і відносній вологості 60-80 %. Евтаназію тварин здійснювали шляхом передозування Тіопенталу натрію з розрахунку 75 мг/кг маси тіла тварини внутрішньочеревино.

При проведенні роботи над експериментальними тваринами дотримувались положень Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви Ради Європи 2010/63/EU.

Після проведеного експерименту проводили забір діафрагми щура відповідно до авторського свідоцтва на твір № 126059 від 29 квітня 2024 року [9]. Макропрепарат діафрагми зображений на рисунку 1.



Рис. 1. Видалений макропрепарат діафрагми:  
1 – реброва частина діафрагми

Отриманий біопсійний матеріал поміщали у 10 % розчин нейтрального формаліну. Після відповідного терміну витримання у формаліні його зневоднювали в етилових спиртах зростаючої концентрації та заливали у парафін. З кожного парафінового блоку на мікротомі виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм, які після депарафінізації фарбували гематоксиліном і еозином.

Результати дослідження та їх обговорення. Реброва частина діафрагми була представлена поперечно-посмугованими м'язовими волокнами, розташованими у вигляді щільного пласту. При огляді на поздовжніх зрізах структура була притаманна цьому виду м'яза. За величиною товщини волокна не значно вирізнялись, саркоплазма мала світлий еозинофільний колір. Відношення до барв-

ників було неоднорідне і нерідко саркоплазма набувала глибокої структури. Ядра представлені у формі подовженого овала орієнтовані паралельно

волокну. Також на поздовжніх зрізах розрізняється поперечна посмугованість у вигляді прямих або дугоподібних смужок (рис. 2).

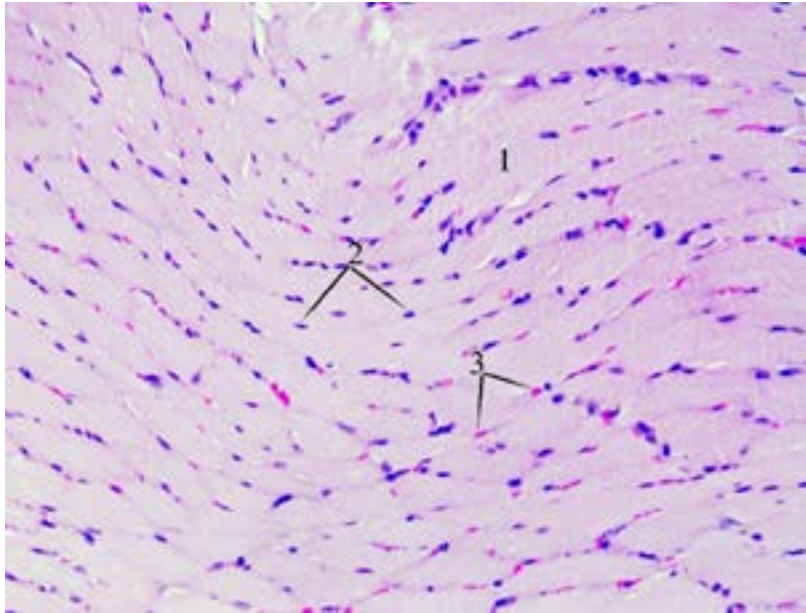


Рис. 2. Морфоструктура ребрової частини діафрагми інтактного щура: 1 – саркоплазма; 2 – ядра; 3 – капіляри, розташовані в ендомізії. Забарвлення гематоксиліном і еозином.  $\times 200$

На поперечних зрізах, м'язові волокна переважно полігональні або овально-округлі, добре візуалізується сполучнотканинний компонент: кожне м'язове волокно оточене тонкими колагеновими

волокнами, а їх пучки – більш щільним сполучнотканинним прошарком – перимізійом. У сполучній тканині у невеликій кількості розміщені фібробласти та капіляри (рис. 3).

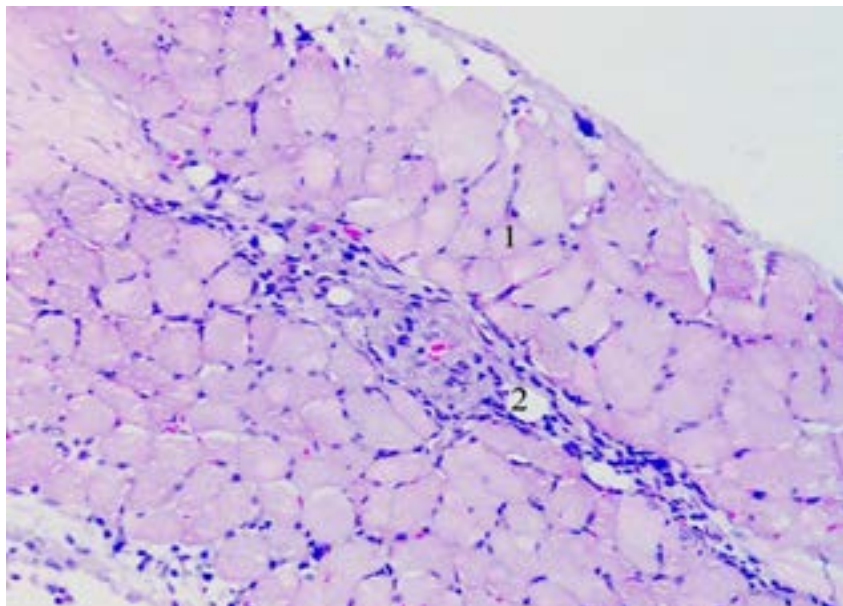


Рис. 3. Морфоструктура ребрової частини діафрагми щура інтактної групи на поперечному зрізі: 1 – поперечні зрізи м'язових волокон із сублемальним розташуванням ядер; 2 – перимізій із локалізованим в ньому судинним пучком. Забарвлення гематоксиліном і еозином.  $\times 200$

Через 1 годину структура цієї частини діафрагми майже не відрізнялася від норми, отриманої в інтактній групі. Поперечно-посмуговані м'язові волокна зберігали компактне розташування і мали чітко візуалізовану поперечну посмугованість на

поздовжніх зрізах. Ядра м'язових волокон мономорфні, однорідні за кольором з локалізацією під мембраною. Однак спостерігалася більша варіабельність товщини м'язових волокон і з'являлася деформація їх ходу у вигляді хвилеподібного розташування (рис. 4).

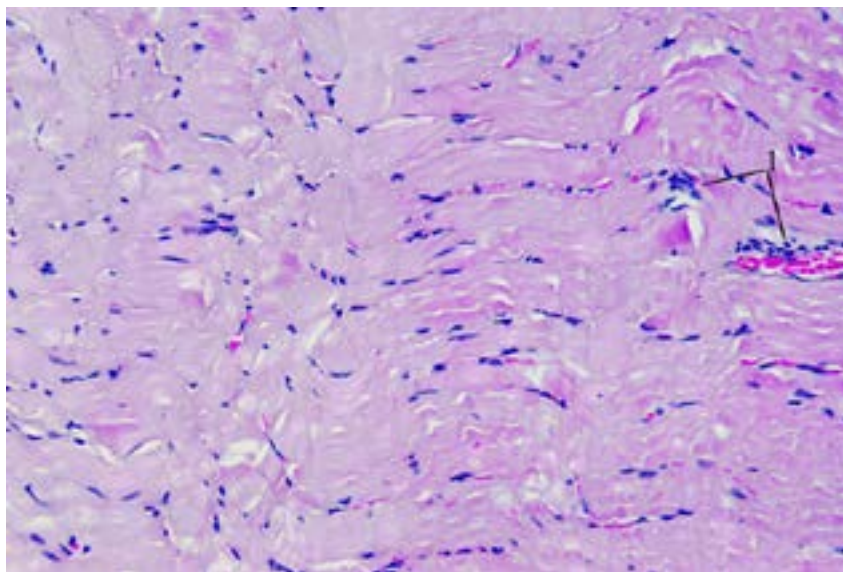


Рис. 4. Реброва частина діафрагми через 1 годину, поздовжній вигляд: 1 – хвилеподібне розташування м'язових волокон, неоднорідне забарвлення та дрібні лімфоцитарні інфільтрати поблизу судин. Забарвлення гематоксиліном і еозином.  $\times 200$

Відслідковувалась більше виражена неоднорідність забарвлення волокон і їх набряк. Строма між волокнами дуже тонка, навколо судинних пучків виражена краще і містила жирову клітковину. Були присутні поодинокі макрофаги та лімфоцити. Капіляри та венули повнокровні із явищами стазу крові (рис. 5).

Морфологічне дослідження частини діафрагми через 3 години після ПП, показало прогресування структурних змін. М'язові волокна набухали, наявний хвилеподібний хід міофібрил.

Саркоплазма забарвлена нерівномірно з осередками вакуолізації та гомогенізації і лізису. На даному етапі поперечна посмугованість візуалізувалася фрагментарно. Нерівномірне розташування ядер, спостерігалась їхня дислокація у напрямку до центру. Спостерігались ознаки венозного повнокров'я. Перивазальна сполучна тканина розрихлена набряком та розростанням в ній жирової тканини. Присутні малоінтенсивні клітинні інфільтрати в складі яких переважали лімфоцити і гістіоцити (рис. 6).

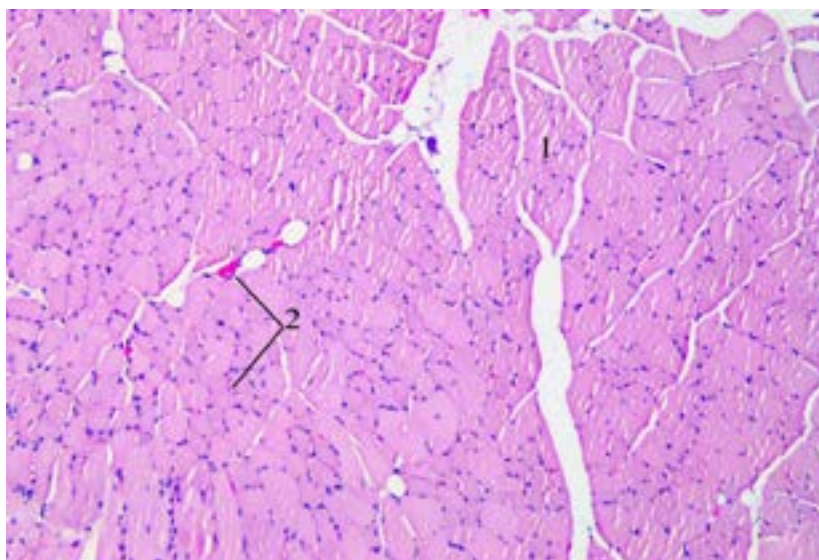


Рис. 5. Поперечний зріз ребрової частини діафрагми щура через 1 год. М'язові волокна розташовані компактно із типовою локалізацією ядер: 1 – зона набряку волокон; 2 – повнокров'я капілярів і венул. Забарвлення гематоксиліном і еозином.  $\times 100$

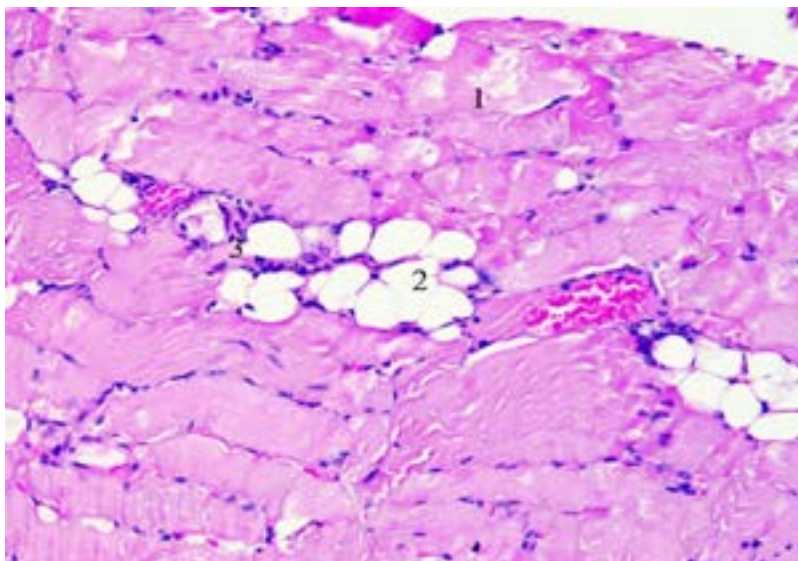


Рис. 6. Морфоструктура ребрової частини діафрагми щура через 3 години після ПП: 1 – міоцитоліз та стирання меж між волокнами; 2 – жирова інфільтрація перимізіальної сполучної тканини, поєднана ізклтинною інфільтрацією. Забарвлення гематоксилином і еозином.  $\times 200$

Через 5 годин після ПП спостерігалось поглиблення деструктивних змін в усіх структурних компонентах діафрагми. М'язові волокна зберігали компактне розташування, але спостерігались розмитість їхніх меж і втрата диференціації із стромою. Саркоплазма мала неоднорідне забарвлення – інтенсивно еозинофільні ділянки чергувались із гіпохромними, на тлі яких присутня фрагментація, вакуолі-

зація, глибокий розпад саркоплазми та міоцитоліз. Спостерігається ундулярний хід міофібрил, поперечна посмугованість візуалізується частково або повністю відсутня. Окрім зазначених змін спостерігали зміни компенсаторного характеру – гіпертрофію волокон. Строма потовщена периваскулярно і представлена жировою клітковиною. Вени і капіляри повнокровні, присутній розподільчий лейкоцитоз (рис. 7).

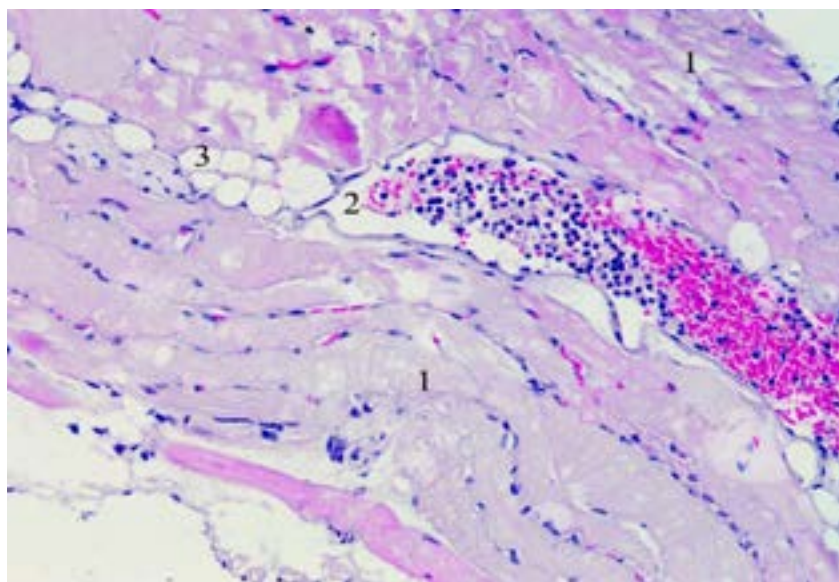


Рис. 7. Морфоструктура ребрової частини діафрагми через 5 годин після ПП: 1 – м'язові волокна вакуолізуються і розпадаються, «зливаються» через лізис клітинних мембран; 2 – перерозподіл крові у вені із ефектом розподільчого лейкоцитозу; 3 – жирова інфільтрація перимізію. Забарвлення гематоксилином і еозином.  $\times 200$

**Висновок.** Через 1 годину після пневмоперитонеуму м'язові волокна з чіткою поперечною посмугованістю, розташовані компактно, спостерігається варіабельність за товщиною, волокна приймали хвилеподібне розташування. Через 3 години поперечна посмугованість візуалізується

фрагментарно, ядра розташовуються не рівномірно з дислокацією до центру. Спостерігались ознаки венозного повнокров'я. Сполучна тканина розрихлена набряком, присутні малоінтенсивні клітинні інфільтрати в складі яких переважали лімфоцити і гістіоцити. Через 5 годин спостері-

галось поглиблення деструктивних змін. М'язові волокна розташовані компактно, але межі не чіткі. Еозинофільні ділянки чергуються із гіпохромними, місцями розпад саркоплазми та міоцитоліз. Повнокровність вен і капілярів, присутній розподільчий лейкоцитоз.

**Перспективи подальших досліджень.** Дане дослідження поклало початок цілому комплексу досліджень частин діафрагми за умови пневмоперитонеуму викликаному вуглекислим газом під час лапароскопії за умови дії неоднакового рівня інтраабдомінального тиску за різної тривалості.

#### Список використаної літератури

1. Sao CH, Chan-Tiopianco M, Chung KC, Chen YJ, Horng HC, Lee WL, et al. Pain after laparoscopic surgery: Focus on shoulder-tip pain after gynecological laparoscopic surgery. *J Chin Med Assoc.* 2019 Nov;82(11):819-26. doi: 10.1097/JCMA.000000000000190.
2. Nguyen TK, Nguyen VL, Nguyen TG, Mai DH, Nguyen NQ, Vu TA, et al. Lung-protective mechanical ventilation for patients undergoing abdominal laparoscopic surgeries: a randomized controlled trial. *BMC Anesthesiol.* 2021 Mar 30;21(1):95. doi: 10.1186/s12871-021-01318-5.
3. Kim K, Jang DM, Park JY, Yoo H, Kim HS, Choi WJ. Changes of diaphragmatic excursion and lung compliance during major laparoscopic pelvic surgery: A prospective observational study. *PLoS One.* 2018 Nov 29;13(11): e0207841. doi: 10.1371/journal.pone.0207841.
4. Rustagi PS, Yadav A, Nellore SS. Ultrasonographic evaluation of diaphragmatic excursion changes after major laparoscopic surgeries in the Trendelenburg position under general anaesthesia: A prospective observational study. *Indian J Anaesth.* 2023 Nov;67(Suppl 4): S274-S280. doi: 10.4103/ija.ija\_643\_23. Epub 2023 Nov 21.
5. Sag S, Imamoglu M, Sarihan H, Yulug E, Alver A, Geze Saatci S, et al. Effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on exocrine and endocrine functions, and oxidative state of rat pancreas. *Biotech Histochem.* 2021 May;96(4):257-62. doi: 10.1080/10520295.2020.1789224.
6. Yilmaz S, Polat C, Kahraman A, Koken T, Arikan Y, Dilek ON, et al. The comparison of the oxidative stress effects of different gases and intra-abdominal pressures in an experimental rat model. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2004 Jun;14(3):165-8. doi: 10.1089/1092642041255450.
7. Bilgic T, Narter F. Effects of pneumoperitoneum with carbon dioxide on renal and hepatic functions in rats. *Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne.* 2020 Dec;15(4):574-82. doi: 10.5114/wiitm.2020.93990.
8. Кріцак МЮ, Росоловська СО, Левчик ОІ. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір. Спосіб моделювання експериментального карбоксиперитонеуму у щура. № 126409 від 16 травня 2024 року.
9. Кріцак МЮ, Слабий ОБ, Ясіновський ОБ. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір. Спосіб відбору експериментального матеріалу діафрагми білих щурів. № 126059 від 29 квітня 2024 року.

#### References

1. Sao CH, Chan-Tiopianco M, Chung KC, Chen YJ, Horng HC, Lee WL, et al. Pain after laparoscopic surgery: Focus on shoulder-tip pain after gynecological laparoscopic surgery. *J Chin Med Assoc.* 2019 Nov;82(11):819-26. doi: 10.1097/JCMA.000000000000190.
2. Nguyen TK, Nguyen VL, Nguyen TG, Mai DH, Nguyen NQ, Vu TA, et al. Lung-protective mechanical ventilation for patients undergoing abdominal laparoscopic surgeries: a randomized controlled trial. *BMC Anesthesiol.* 2021 Mar 30;21(1):95. doi: 10.1186/s12871-021-01318-5.
3. Kim K, Jang DM, Park JY, Yoo H, Kim HS, Choi WJ. Changes of diaphragmatic excursion and lung compliance during major laparoscopic pelvic surgery: A prospective observational study. *PLoS One.* 2018 Nov 29;13(11): e0207841. doi: 10.1371/journal.pone.0207841.
4. Rustagi PS, Yadav A, Nellore SS. Ultrasonographic evaluation of diaphragmatic excursion changes after major laparoscopic surgeries in the Trendelenburg position under general anaesthesia: A prospective observational study. *Indian J Anaesth.* 2023 Nov;67(Suppl 4): S274-S280. doi: 10.4103/ija.ija\_643\_23. Epub 2023 Nov 21.
5. Sag S, Imamoglu M, Sarihan H, Yulug E, Alver A, Geze Saatci S, et al. Effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on exocrine and endocrine functions, and oxidative state of rat pancreas. *Biotech Histochem.* 2021 May;96(4):257-62. doi: 10.1080/10520295.2020.1789224.
6. Yilmaz S, Polat C, Kahraman A, Koken T, Arikan Y, Dilek ON, et al. The comparison of the oxidative stress effects of different gases and intra-abdominal pressures in an experimental rat model. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2004 Jun;14(3):165-8. doi: 10.1089/1092642041255450.

7. Bilgic T, Narter F. Effects of pneumoperitoneum with carbon dioxide on renal and hepatic functions in rats. *Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne*. 2020 Dec;15(4):574-82. doi: 10.5114/wiitm.2020.93990.
8. Kritsak MYU, Rosolovs'ka SO, Levchuk OI. Svidotstvo pro reyestratsiyu avtors'koho prava na tvir. Sposib modelyuvannya eksperymental'noho karboksypertoneumu u shchura. № 126409 vid 16 travnya 2024 roku. [in Ukrainian].
9. Kritsak MYU, Slabyy OB, Yasinovs'kyi OB. Svidotstvo pro reyestratsiyu avtors'koho prava na tvir. Sposib vidboru eksperymental'noho materialu diafrahmy bilykh shchuriv. № 126059 vid 29 kvitnya 2024 roku. [in Ukrainian].

### MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE COSTAL PART OF THE DIAPHRAGM ARE CAUSED BY PNEUMOPERITONEUM OF MODERATE PRESSURE IN THE EXPERIMENT

**Abstract.** Laparoscopy, one of the minimally invasive procedures, is a widely used procedure for the diagnosis and treatment of various types of clinical problems. Pneumoperitoneum during laparoscopy causes a displacement of the diaphragm by 1-3 cm. towards the pleural cavity and can cause problems in organs and tissues after surgery. Does the morphological structure of the diaphragm change?

**Aim.** To investigate the histological structure of the costal part of the diaphragm after intra-abdominal pressure created by carbon dioxide for different times.

**Material and methods.** The experimental study was performed on 40 animals, which were divided into 4 groups of 10 rats each as follows. Group I – an intact group, which was not modeled with any pathology, was used as an indicator of the norm of the morphological picture. Group II – created PP for 1 hour, Group III – created PP for 3 hours and Group IV – created PP for 5 hours. After which the required part of the diaphragm was selected.

**Results.** The obtained data on the morphology of the intact group indicated the signs characteristic of this group of muscles. In Group II, muscle fibers with clear transverse striation were detected, located compactly, variability in thickness was observed, and they took a wavy arrangement. In Group III animals, transverse striation is visualized fragmentarily, the nuclei are located unevenly with dislocation to the center. Signs of venous congestion were observed. The connective tissue is loosened by edema, there are low-intensity cellular infiltrates in the composition of which lymphocytes and histiocytes predominated. When studying the materials of Group IV animals, a deepening of destructive changes was observed. Muscle fibers are compactly arranged, but the boundaries are not clear. Eosinophilic areas alternate with hypochromic, in places there is sarcoplasmic decay and myocytolysis. Venous and capillary engorgement, there is a distribution leukocytosis.

**Conclusion.** It was established that pneumoperitoneum at a level of 5 mm Hg. leads to the appearance of destructive changes in the costal part of the diaphragm and is comparable to the intact group. The severity of these changes depends on the duration of intra-abdominal pressure created in this experimental model.

**Key words:** pneumoperitoneum, carbon dioxide, experiment, rats, diaphragm.

*Відомості про автора:*

**Крицак Мирослав Юрійович** – кандидат медичних наук, доцент кафедри хірургії факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль.

*Information about the author:*

**Kritsak Myroslav Yu.** – PhD, Associate Professor of the Surgery the Faculty of Postgraduate Education Department of the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil.

Надійшла 08.10.2024 р.