

МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ РЕАКЦІЇ ТКАНИН ПЕЧІНКИ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ НА ІМПЛАНТАЦІЮ ПОЛІФІЛАМЕНТНОГО ХІРУРГІЧНОГО ШОВНОГО МАТЕРІАЛУ З ШОВКУ

Р.В. Скорук

Кафедра нормальної анатомії людини (зав. – д.м.н., проф. Ю.Й. Гумінський), Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. 21018 Україна, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56. E-mail: admission@vsmu.vinnica.ua

MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC ANALYSIS OF REACTION OF LIVER TISSUES AND SKELETAL MUSCLE POLIFILAMENTNOGO IMPLANTATION OF SURGICAL SUTURE MATERIAL OF SILK R.V. Skoruk

SUMMARY

Morfometričnij and morphological analysis of reaction tissue of rats implantation of surgical suture material of silk that the implantation of silk in liver tissue and muscles in experimental animals is an inflammatory reaction, which gradually becomes chronic and even 180 days of observation continues to be inflammation, which is confirmed by the nature of cell composition around the implanted ligatures. Keywords: surgical suture material, silk, reaction of tissues.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РЕАКЦИИ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ НА ИМПЛАНТАЦИЮ ПОЛИФИЛАМЕНТНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ШОВНОГО МАТЕРИАЛА ИЗ ШЕЛКА

Р.В. Скорук

РЕЗЮМЕ

Морфометрический и морфологический анализ реакции тканей крыс на имплантацию хирургического шовного материала из шелка, показали, что при имплантации шелка в ткани печени и мышц у экспериментальных животных возникает выраженная воспалительная реакция, которая постепенно приобретает хронический характер и даже на 180 сутки наблюдения продолжает сохраняться воспаление, что подтверждается характером клеточного состава вокруг имплантированных лигатур.

Ключові слова: хірургічний шовний матеріал, шовк, реакція тканин.

Проблема з'єднання тканин при виконанні оперативних втручань в різних галузях хірургії залишається однією з найбільш актуальних проблем. Не дивлячись на впровадження в хірургічну практику сучасних методів з'єднання тканин, основним методом залишається з'єднання тканин за допомогою ручного шва з використанням різних видів хірургічного шовного матеріалу. Від виду шовного матеріалу залежить надійність з'єднання тканин та виникнення тих чи інших післяопераційних ускладнень, кількість яких залишається на високому рівні [1].

На сьогодні в Україні продовжують використовуватись для з'єднання тканин так звані «класичні» шовні матеріали (шовк, капрон, кетгут), які не зовсім задовольняють хірургів. Результати хірургічного лікування різних захворювань безпосередньо залежить від реакції тканин на шовний матеріал, який використовується [2].

Мета дослідження – морфометричний та морфологічний аналіз реакції тканин при імплантації класичного хірургічного шовного матеріалу з шовку.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Під час проведення експериментального дослідження дотримувалися основних міжнародних біоетичних норм і законодавчих документів України про біоетику.

При вивченні реакції тканин на імплантацію шовного матеріалу в роботі був використаний стерильний атравматичний шовний матеріал з шовку діаметром 0,085 мм (умовний номер 6/0) з колючою голкою 12 мм 3/8 діаметром 0,28 мм. Шовний матеріал виготовлений і стерилізований оксидом етилену компанією ВАН «ГОЛНИТ™» відповідно до стандарту ISO 9001: 2008 і Держстандарту України системи сертифікації УкрСЕПРО (сертифікати відповідності № UA 1.003.0070194–11; 1.003.0070198–11) та дозволений до використання в медичній практиці (свідоцтво МОЗ України № 6668/2007).

Експериментальна частина роботи виконана на 35 щурах масою тіла від 200 до 250 грам, які утримувалися у віварії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова відповідно загальноприйнятих норм [3, 4]. Після проведення премедикації димедролом (1,5 мг/кг) і аміназином (0,02 мг/кг), які вводили внутрішньом'язово, проводили анестезію кетаміном (10,0 мг/кг). Після проведення середньої лапаротомії прошивали печінку, м'язи поперекової ділянки з боку черевної порожнини, а потім вузловими швами зашивали післяопераційну рану. Тварин виводили з досліду шляхом декапітації після попереднього введення тіопенталу натрію (50 мг/кг) через 3, 5, 7, 14, 21, 30 та 180 днів після операції.

Після виведення тварин з досліду проводили розтин тварини та оцінювали загальний стан органів черевної порожнини, їх положення, розміри, колір, поверхню, вираженість спайкового процесу, наявність макроскопічних змін в ділянці імплантації лігатур і забирали тканини для морфологічних досліджень. Взяті для дослідження тканини печінки і м'язів фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Виготовлені гістологічні препарати забарвлювали гематоксилін-еозином, по Ван Гізон [5]. Забарвлені зрізи вивчали під світловим мікроскопом OLYMPUS BX-41. Морфометричні дослідження змін клітинного складу у тканинах в місцях імплантації шовного матеріалу проводили за методикою Г.Г. Автандилова (1990) [6].

Для проведення статистичних розрахунків була використана інтегральна система STATISTICA ® 5.5 (STAT + SOFT ® Snc, USA).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При імплантації шовку в тканини печінки через 3–5 діб від початку експерименту навколо шовного матеріалу визначалося щільне скупчення моноцитарних, макрофагальних елементів і епітеліоїдних клітин, між якими були нерівномірно розподілені плазматичні клітини, лімфоцити і сегментоядерні нейтрофіли. Безпосередньо навколо шовної нитки у вигляді вузької муфти розташовувалися епітеліоїдні клітини, які зливалися в симпласти, а також вже сформовані багатоядерні гігантські клітини (БЯГК) стороннього тіла. При цьому частина з них проникала між волокнами самої нитки. В тканинах печінки навколо шовного матеріалу спостерігались виражені некротично-дистрофічні зміни. Гепатоцити навколо лігатур були збільшені в розмірах, мали нечіткі межі, Цитоплазма гепатоцитів набувала слабо-базофільного зернистого вигляду, ядра були з ознаками вакуолізації. Частина гепатоцитів взагалі не мала ядра, цитоплазма була гомогенізована, з підвищеною еозинофільністю. Фіброзна тканина капсули печінки і портальних трактів в місцях імплантації лігатур була некротизована і представлена у вигляді гомогенних еозинофільних мас, між якими розташовувалися зруйновані сегментоядерні нейтрофільні лейкоцити (рис. 1).

Дистальніше від клітинного інфільтрату, спостерігалися дрібновогнищеві крововиливи, розрідження тканинних структур, з ознаками їх набряку і набухання. Балкова будова печінки навколо місця розташування шовного матеріалу була збережена, проте гепатоцити перебували у стані зернистої і гідропічної дистрофії. Синусоїди були інфільтровані моноцитарними гістіоцитами і плазматичними клітинами. На тлі помірного нерівномірного повнокрів'я судини портальних трактів спостерігався стаз та слабко виражений діapedез еритроцитів. При морфометричному дослідженні клітинного складу в тканинах печінки переважали лейкоцити, кількість яких складала $657,0 \pm 18,4$ клітин на мм^2 . Кількість лімфоцитів була на рівні $76,9 \pm 2,7$ клітин на мм^2 , макрофаги і моноцити визначались в кількості $19,6 \pm 0,9$ клітин

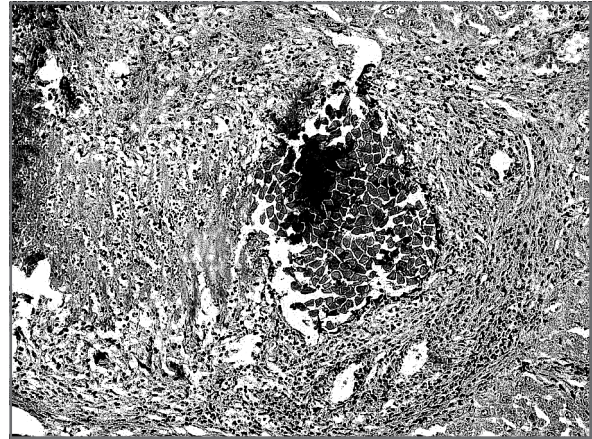


Рис. 1. Запальна реакція в місці імплантації шовкової лігатури, ділянка некрозу з інфільтрацією сегментоядерними нейтрофілами, дисконлексація і дистрофія гепатоцитів на 3 добу експерименту. Забарвлення гематоксилиноезин, $\times 200$

на мм^2 , а кількість БЯГК складала $12,4 \pm 1,2$ клітин на мм^2 тканини.

На 7 добу експерименту відзначалося зменшення ступеня ішемічних ушкоджень гепатоцитів – цитоплазма їх просвітлювалася, спостерігалась більш чітка межа клітин. Запальний вал навколо лігатур не був виражений, переважала розсіяна інфільтрація лімфогістіоцитарними елементами. У той же час кількість епітеліоїдних і БЯГК сторонніх тіл збільшилася. В зоні імплантації шовку ушкодження визначались численні тонкостінні кровоносні судини мікроциркуляторного русла з розширеним просвітом та ознаками повнокрів'я. Кількість фібробластів і колагенових волокон збільшилася, одиничні фібробласти визначались безпосередньо в зоні пошкодження серед некротичних мас.

Через 7 діб від початку експерименту відмічались зміни клітинного складу, кількість лейкоцитів достовірно ($p < 0,05$) зменшувалась, в порівнянні з попередніми термінами спостереження, і складала $543,0 \pm 15,7$ клітин на мм^2 , майже вдвічі зросла кількість лімфоцитів ($p < 0,05$) до $146,2 \pm 21,4$ клітин на мм^2 та кількість макрофагів і моноцитів до $219,4 \pm 22,7$ клітин на мм^2 . Разом з тим достовірно зросла кількість БЯГК стороннього тіла до $20,9 \pm 0,7$ клітин на мм^2 тканини.

На 14 добу спостереження в тканинах визначались явища лімфостазу, зберігався запальний інфільтрат і гранулематозна реакція. Сполучнотакнинні утворення ущільнились, тонкі пучки колагенових волокон і пучки фібробластів концентрично охоплювали нитку з зоною ушкодження. Зберігалось повнокрів'я синусоїдів печінки і портальних трактів навколо місця імплантації лігатури. Кількість нейтрофільних лейкоцитів в запальному інфільтраті навколо лігатур зменшувалась до $357,0 \pm 10,3$ клітин на мм^2 і була достовірно менша ($p < 0,05$), ніж в попередній термін спостереження. Кількість лімфоцитів, макрофагів і моноцитів залишалась на рівні попереднього терміну

спостереження ($p > 0,05$). БЯГК стороннього тіла визначались у великій кількості – $16,5 \pm 0,2$ клітин на мм^2 тканини, хоча їх кількість була достовірно ($p < 0,05$) менша, ніж на 7 добу спостереження.

Зазначені гістологічні зміни, в цілому, зберігалися і на 21 добу експерименту. Зменшилося число клітин запалення, особливо плазмоцитарних елементів і БЯГК. Фіброзна капсула навколо лігатур стала більш зрілою і щільною за рахунок збільшення кількості колагенових волокон і їх впорядкування. Фібробласти у вигляді пучків і капіляри активно проростали зону ушкодження тканин. У прилеглий паренхімі печінки спостерігались гепатоцити з ознаками зернистої дистрофії. Повнокров'я синусоїдів відзначалась лише в зоні, яка безпосередньо межувала з місцем пошкодження.

На 30 добу спостереження в більшості випадків навколо шовного матеріалу і на місці некротизованих тканин сформувалася фіброзна капсула з щільною розташованих, переважно паралельно спрямованих, пучків колагенових волокон і невеликої кількості середніх фіброцитів, фібробластів і одиничних лімфоцитозитарних елементів. У той же час, в окремих випадках в місці розташування шовного матеріалу виявлено осередки гнійно-некротичних змін тканин з наявністю численних колоній бактерій. Навколо цих вогнищ розташовувалася багата тонкостінними судинами щільна фіброзна тканина, і виражена запальна інфільтрація сегментоядерними нейтрофілами (переважно навколо самого тканинного детриту) та лімфо-плазмацитарними елементами. В тканинах, що прилягали до імплантованої лігатури спостерігались гепатоцити з ознаками дистрофії (рис. 2). На 30 добу кількість нейтрофільних лейкоцитів в тканинах навколо імплантованих лігатур складала $245,6 \pm 10,3$ клітин на мм^2 , що свідчило про наявність запального процесу навколо шовного матеріалу по типу хронічного запалення, що підтверджувалось кількістю лімфоцитів

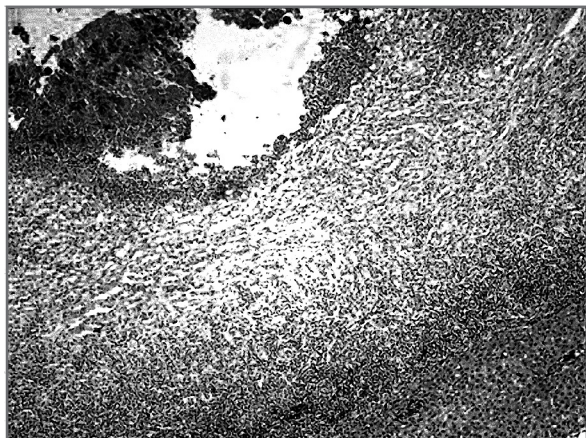


Рис. 2. Гнійно-некротичні зміни з колоніями бактерій, попередньо сформована фіброзна капсула навколо імплантації шовкової нитки в тканинах печінки на 30 добу експерименту. Забарвлення гематоксилин-еозин, x 100

$125,3 \pm 18,3$ клітин на мм^2 , макрофагів та моноцитів $148,4 \pm 13,7$ клітин на мм^2 і великою кількістю БЯГК стороннього тіла – $9,3 \pm 0,3$ клітин на мм^2 .

При проведенні морфометричного аналізу на 180 добу спостереження зберігались ознаки хронічного запального процесу навколо шовного матеріалу: кількість нейтрофільних лейкоцитів складала $157,0 \pm 6,2$ клітин на мм^2 , лімфоцитів – $107,4 \pm 14,8$ клітин на мм^2 , макрофагів та моноцитів – $97,4 \pm 7,5$ клітин на мм^2 і БЯГК стороннього тіла – $4,3 \pm 0,1$ клітин на мм^2 .

В ділянках імплантації шовку в скелетні м'язи на 3–5 добу експерименту, так як і в тканинах печінки, в безпосередній близькості до розташування шовного матеріалу відзначався коагуляційний некроз частини скелетних м'язових волокон, дисоціація і виражене витончення їх внаслідок набряку ендо- і перимізію. Пошкоджені волокна частково були представлені розрізненими інтенсивно базофільними фрагментами полігональної форми, в деяких з них по периферії ще зберігаються залишки ядер. Крім базофільних фрагментів були пучки м'язових волокон з «мутною» еозинофільною гомогенізованою саркоплазмою без ядер. Збережені м'язові волокна були покручені, цитоплазма їх нерівномірно еозинофільна, вогнищево гомогенізована, а місцями, навпаки, поздовжньо розволокнена. Поперечна посмугованість на значному проміжку не спостерігалась. У сполучнотканинних прошарках м'язів, у зоні пошкодження тканин відзначалася відносно рівномірна дифузно-розсіяна інфільтрація сегментарноядерними нейтрофілами і плазматичними клітинами, макрофагальними елементами і лімфоцитами. Запальний клітинний інфільтрат проникав між волокнами перимізію, порушуючи його цілісність. Безпосередньо біля нитки спостерігались ділянки фібринозного некрозу, про що свідчила наявність зруйнованих колагенових волокон з ділянками пікрофуксифільних глибоких мас (рис. 3).

Збережені колагенові волокна були дисоційова-

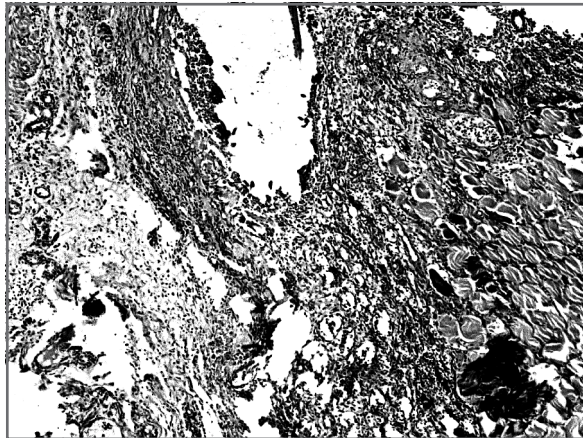


Рис. 3. Виразена запальна реакція, пошкодження скелетних м'язових волокон в місці імплантації шовкової нитки на 3 добу експерименту. Забарвлення гематоксилин-еозин, x 100

ні, набрякли, блідо забарвлювалися пікрофуксином. Між волокнами нерівномірно розподіляються фіброblastи і велике число тонкостінних, переважно капілярного типу судин з широким просвітом і набряклим ендотелієм. В тканинах навколо нитки спостерігалися вогнищеві периваскулярні крововиливи переважно навколо прокольних каналів.

Аналогічно, як і в тканинах печінки в м'язовій тканині при імплантації шовку відзначалась запальна реакція. Кількість лейкоцитів складала $678,0 \pm 15,7$ клітин на мм^2 , кількість яких достовірно не відрізнялась від кількості лейкоцитів в тканинах печінки. Лімфоцитарна та макрофагальна реакція на цей термін спостереження також не була вираженою. Лімфоцити визначались в кількості $80,3 \pm 1,7$ клітин на мм^2 тканини, кількість макрофагів та моноцитів – $18,4 \pm 0,5$ клітин на мм^2 , кількість БЯГК складала $16,3 \pm 1$ клітин на мм^2 .

На 7 добу, в порівнянні з попередніми термінами спостереження, відзначалося зменшення числа некротизованих м'язових волокон і явищ набряку. Помірно виражена сегментоядерна і лімфо-гістіоцитарна інфільтрація, носили нерівномірний розсіяний характер. У той же час кількість макрофагальних елементів, в тому числі і БЯГК, збільшилася. Навколо шовного матеріалу сформувався епітеліоїдно-клітинний грануляційний вал. Макрофагальна реакція була особливо виражена навколо ниток, розташованих в міжм'язових сполучнотканинних прошарках, де епітеліоїдні клітини спільно з БЯГК стороннього тіла щільними муфтами охоплювали одиничні волокна шовку або їх групи, що призводило до порушення цілісності структури шовного матеріалу. Зберігалось набухання і дисоціація пікрофуксинових волокон сполучної тканини. Запалення дещо зменшувалося, навколо лігатур визначались лейкоцити в кількості $569,0 \pm 15,7$ клітин на мм^2 , зростала кількість лімфоцитів до $184,3 \pm 20,7$ клітин на мм^2 , макрофагів та моноцитів до $227,3 \pm 20,4$ клітин на мм^2 . Так як і при імплантації лігатур в печінку на 7 добу спостереження зросла кількість БЯГК стороннього тіла до $22,8 \pm 0,4$ клітин на мм^2 .

На 14 добу експерименту некрозу м'язових волокон не спостерігалось, явища набряку зменшились і були незначні. В розсіяному запальному інфільтраті кількість лімфо-плазмацитарних елементів значно зменшилася, сегментоядерні нейтрофіли – спостерігалися у вигляді невеликих скупчень. Серед клітин макрофагального ряду, щільно розташованих навколо структурних елементів шовного матеріалу, відзначалось деяке зменшення числа епітеліоїдних і БЯГК, поява активних фіброblastів. Навколо гранулематозного валу зростала кількість колагенових волокон, які були різноспрямованими. Кількість функціонуючих капілярів значно зменшилася. У скелетних м'язових волокнах зберігалися ознаки дис-

трофії. Запальні явища в ділянці імплантації лігатур зменшувалась, про що свідчило зменшення кількості нейтрофільних лейкоцитів до $397,0 \pm 11,4$ клітин на мм^2 , зростання кількості лімфоцитів до $245,1 \pm 26,4$ клітин на мм^2 та кількості макрофагів і моноцитів – до $196,4 \pm 23,4$ клітин на мм^2 тканини. Але кількість БЯГК стороннього тіла залишалась на високому рівні $18,3 \pm 1,2$ клітин на мм^2 .

На 21 добу у всіх дослідах відзначено значне зменшення числа макрофагальних клітин у складі гранулематозного валу, потовщення і ущільнення колагенових волокон, що формували чітку фіброзну капсулу навколо шовного матеріалу. У м'язових волокнах зберігалися дистрофічні зміни. При цьому в 5 випадках навколо імплантованих лігатур відзначалось збільшення числа запальних клітинних елементів, в основному за рахунок сегментоядерних нейтрофілів і плазматичних клітин, наростання явищ набряку, різкого розширення і повнокрів'я судин мікроциркуляторного русла.

На 30 добу навколо шовного матеріалу зберігалась епітеліоїдноклітинні гранульоми у вигляді неширокого обідка з БЯГК сторонніх тіл. В більшості випадків визначалося посилення запальної реакції у вигляді помірної вогнищево-розсіяної лімфо-плазмацитарної інфільтрації з домішками сегментоядерних нейтрофілів (рис. 4). У фіброзній капсулі, прилеглому перимізії кількість зрілих колагенових волокон і їх пучків збільшилася, щільність їх зросла, кількість фіброblastів зменшилася. Спостерігалось зменшення кількості функціонуючих судин. Явища запалення продовжували зменшуватися та набували хронічного характеру. Кількість лейкоцитів складала $179,0 \pm 8,4$ клітин на мм^2 , кількість лімфоцитів $136,2 \pm 17,3$ клітин на мм^2 , макрофаги і моноцити визначались в кількості $179,5 \pm 14,9$ клітин на мм^2 , а кількість БЯГК стороннього тіла складала $10,0 \pm 0,3$ клітин на мм^2 .

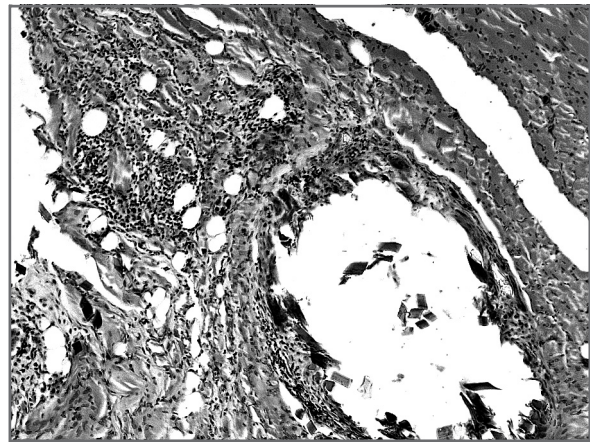


Рис. 4. Запальна інфільтрація скелетної м'язової тканини в зоні імплантації шовкової лігатури, відмежованої фіброзною капсулою з БЯГК на 30 добу експерименту. Забарвлення гематоксилин-еозин, x 200

На 180 добу спостереження в м'язах навколо шовного матеріалу продовжував протікати процес хронічний запальний процес. Кількість лейкоцитів складала $164,0 \pm 5,7$ клітин на мм^2 , кількість лімфоцитів $98,5 \pm 8,7$ клітин на мм^2 , макрофаги і моноцити визначались в кількості $123,1 \pm 8,3$ клітин на мм^2 , а кількість БЯГК стороннього тіла складала $5,6 \pm 0,7$ клітин на мм^2 .

Таким чином отримані дані свідчать, що в місцях імплантації шовного матеріалу залишається запальна реакція тканин навіть в кінцеві терміни спостереження, що підтверджується даними морфометричного дослідження і характером клітинного складу в тканинах навколо імпантованих лігатур.

ВИСНОВКИ

1. При імплантації хірургічного шовного матеріалу в тканини печінки та м'язи щурів в перші 7 днів після операції спостерігається виражена запальна реакція, про що свідчить висока кількість нейтрофільних лейкоцитів та багатоядерних гігантських клітин стороннього тіла.

2. Поступове достовірне зменшення кількості нейтрофільних лейкоцитів на фоні зростання кількості лімфоцитів, макрофагів, моноцитів та багатоядерних гігантських клітин стороннього тіла свідчить про наявність хронічного запалення навколо імпантованих лігатур, яке зберігається до 180 доби спостереження.

3. Реакція тканин печінки та м'язів на імплантацію шовку свідчить про недоцільність викорис-

тання цього виду шовного матеріалу для з'єднання тканин при виконанні оперативних втручань.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Отримані дані потребують оцінки в порівнянні з реакцією тканин на імплантацію інших видів шовного матеріалу.

ЛІТЕРАТУРА

1. A new technique for small and secure knots using slippery polyethylene sutures / Kazushi Nishimura, Ryuji Mori, Wataru Miyamoto, Yuji Uchio // *Clinical biomechanics*. – 2009. – 24 (4). – P. 403–406.

2. Профилактика несостоятельности анастомозов желудочно-кишечного тракта в эксперименте / О. В. Галимов, А. Ж. Гильманов, В. О. Ханов и др. // *Медицинский альманах*. – 2008. – № 8. – С. 187–188.

3. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захарина, Б. В. Западнюк; под ред. И. П. Западнюк. – К.: Высшая школа, 1983. – 381 с.

4. Шалимов А. А. Руководство по экспериментальной хирургии / А. А. Шалимов, А. П. Радзиховский, Л. В. Кейсевич. – М.: Медицина, 1989. – 270 с.

5. Микроскопическая техника / под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.

6. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / М.: Медицина, 1990. – 383 с.