

УДК 617.55-089.844-007.274-091:615-085:547.995.15

І.К. Морар,

О.І. Іващук,

І.С. Давиденко,

В.В. Власов¹,

В.Ю. Бодяка

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці; Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова¹

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ГРАНУЛЯЦІЙНОЇ ТКАНИНИ НАВКОЛО ЕЛЕМЕНТІВ СІТЧАСТОГО ІМПЛАНТАТУ ПЕРЕДНЬОЇ ЧЕРЕВНОЇ СТІНКИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Ключові слова: гіалуронова кислота, м'язово-апоневротичний шар, грануляційна тканина.

Резюме. В даній статті представлено результати експериментального дослідження впливу місцевого застосування гіалуронової кислоти на особливості формування грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантату м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки. Встановлено, що місцеве застосування гіалуронової кислоти, при пластиці передньої черевної стінки сітчастим імплантатом, призводить до збільшення питомого об'єму та щільності колагенових волокон навколо елементів останньої, тим самим укріплює передню черевну стінку, а також зменшує запальні процеси в тканинах, спричинені операційною травмою.

Вступ

Досить часто у онкологічних пацієнтів після виконання оперативних втручань на органах черевної порожнини виникають ускладнення з боку післяопераційної рани, особливо в осіб із вираженими явищами вторинного імунodefіциту, кахексії, анемії, тощо [1-3, 5-7].

Пошук нових методів раціональної патогенетичної терапії спрямованої на запобігання розвитку порушень процесів репарації післяопераційних ран є важливою проблемою сучасної онкохірургії.

Однією з таких речовин, яка безпосередньо впливає на процеси регенерації та метаболізму клітин у рані, стимулює синтез колагену є гіалуронова кислота [9].

Результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що місцеве застосування препаратів гіалуронової кислоти, у комплексному лікуванні гнійних ран, стимулює загоєння останніх, шляхом прискорення репаративних процесів [8].

Дослідження місцевого впливу гіалуронової кислоти на особливості формування грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантату дасть змогу використовувати її у даній категорії осіб з метою додаткового укріплення передньої черевної стінки.

Мета дослідження

Дослідити в експерименті вплив гіалуронової кислоти на особливості формування грануляційної

тканини м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки.

Матеріал і методи

Експеримент виконано на 54 статевозрілих нелінійних щурах середнього віку обох статей, масою не менше 180 г, яким імплантовано проленовий (Prolene) сітчастий алотрансплантат фірми ETHICON в тканини м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки.

Під внутрішньом'язовим (м/в) знеболенням (розчин хлоралгідрату 200-250 мг/кг) виконували повздовжній розріз шкіри довжиною 2,5-3,0 см та відшаровували останню від м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки, у місці майбутнього розташування сітчастого імплантату. Шляхом гідропрепаровки, після розсічення передньої пластинки апоневрозу, відшаровували м'язовий шар від задньої пластинки апоневрозу. Проленову сітку відповідних розмірів розміщували у створеному просторі та фіксували його шляхом зшивання країв розсіченої передньої пластинки апоневрозу трьома окремовузловими швами, після чого накладали шви на рану шкіри.

Всі дослідні тварини розподілені на дві групи - порівняння (23 щури) та основну (31 щур). Тваринам основної групи поверх сітчастого імплантату, під час його розташування у м'язово-апоневротичному шарі передньої черевної стінки, наносили безбарвний прозорий в'язкий гель гіалуронової кислоти. Тваринам групи порівняння

не застосовували гель гіалуронової кислоти.

Як гіалуронову кислоту використовували препарат ЛАЦЕРТА 1,5% фірми Юрія-Фарм.

Забір біологічного матеріалу проводили на 3-тю, 5-ту та 7-му доби після виконання оперативного втручання, шляхом висічення м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки разом з сітчастим імплантатом, під загальним в/м знеболенням (розчин хлоралгідрату 200-250 мг/кг) з дотриманням правил асептики.

Хірургічні втручання виконано в умовах віварію Буковинського державного медичного університету, відповідно до національних вимог "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2011), які узгоджені з положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985).

Евтаназію щурів здійснювали згідно з етичними стандартами та діючими рекомендаціями, у стані глибокого наркозу, шляхом введення надлишкової кількості наркотичного препарату, згідно із законом України № 3447-1 від 21.02.2006 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження".

Для світлооптичного дослідження, при гістологічному дослідженні, біоптати м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки фіксували в 10% нейтральному формаліні. Парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, а для ідентифікації колагенових волокон та фібрину використовували методику забарвлення гістологічних зрізів водним блакитним - хромотропом 2 В за Н.З. Слінченко [4]. Використовували описову методику виявлених патоморфологічних змін.

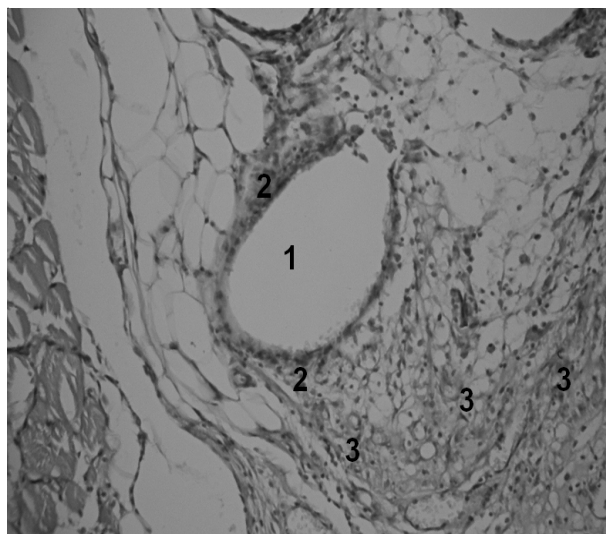


Рис. 1. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура групи порівняння на третю добу після імплантації сітчастого алотрансплантату.

Елемент сітчастого імплантату (1). Тонкий шар грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантату (2). Велика кількість клітин грануляційної тканини (3). Гематоксилін і еозин. Об. 10х. Ок. 10х

Для цілей морфометрії за допомогою комп'ютерної мікроденситометрії (комп'ютерна програма ImageJ 1.48 v) проводили визначення оптичної густини забарвлених колагенових волокон водним блакитним (в. од. опт. густини), питомий об'єм колагенових волокон на одиницю площі грануляційної тканини (%), питомий об'єм кровоносних судин в грануляційній тканині (%).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили з використанням електронних таблиць Microsoft Excel та пакета програм статистичної обробки PAST. Для перевірки нормальності розподілу даних у вибірках застосовували критерій Shapiro-Wilk. Розбіжності між групами досліджень визначали за допомогою критеріїв Mann-Whitney. Результат вважали вірогідним, якщо коефіцієнт вірогідності був $\leq 0,05$, що є загальноприйнятим у медико-біологічних дослідженнях.

Обговорення результатів дослідження

Оцінюючи отримані результати дослідження, слід зазначити, що на третю добу спостереження, в обох дослідних групах тварин відмічається велика кількість клітин (лімфоїдні клітини, плазматичні клітини, макрофаги, фібробласти, окремі поліморфноядерні лейкоцити) навколо елементів сітчастого імплантату. В обох дослідних групах має місце мала кількість колагенових волокон, що видно при забарвленні препарату водним блакитним. У тварин основної групи, на відміну від групи порівняння, спостерігається менша кількість фібрину в грануляційній тканині (рис. 1, рис. 2, рис. 3, рис 4).

На п'яту добу спостереження у тварин

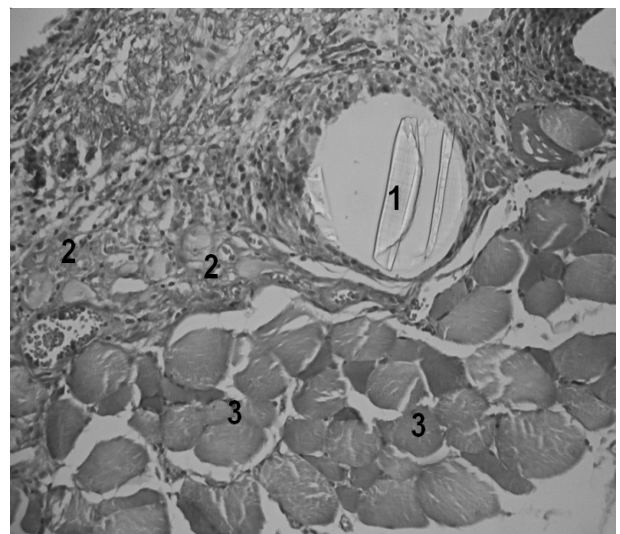


Рис. 2. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура групи порівняння на третю добу після імплантації сітчастого алотрансплантату.

Елемент сітчастого імплантату (1). Мала кількість колагенових волокон (2). М'язи передньої черевної стінки (3). Забарвлення водним блакитним - хромотропом 2 В. Об. 10х. Ок. 10х

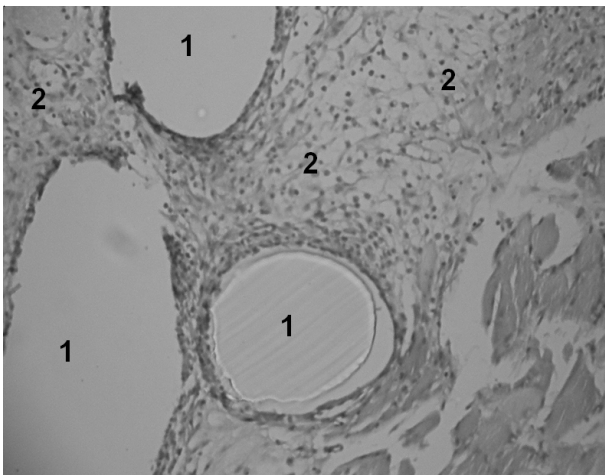


Рис. 3. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура на третю добу після імплантації сітчастого алотрансплантату та застосування гіалуронової кислоти (основна група). Елементи сітчастого імплантату (1). Велика кількість клітин грануляційної тканини (2). Гематоксилін і еозин. Об. 10х. Ок. 10х

основної групи, на відміну від групи порівняння, відмічається значно більша кількість колагенових волокон з інтенсивнішим забарвленням, проте кількість клітин майже однакова. Також, у тварин

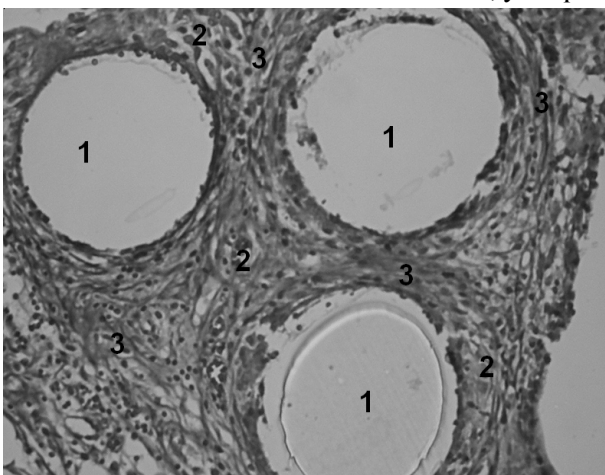


Рис. 5. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура групи порівняння на п'яту добу після імплантації сітчастого алотрансплантату. Елементи сітчастого імплантату (1). Велика кількість клітин грануляційної тканини (2). Мала кількість колагенових волокон (3). Забарвлення водним блакитним-хромотропом 2 В. Об. 10х. Ок. 10х

об'єму колагенових волокон у тварин обох основних груп, які характеризуються більшою щільністю. У тварин групи порівняння оптична густина забарвлених колагенових волокон майже не відрізняється від картини п'ятої доби (рис. 7, рис. 8, рис. 9).

Для об'єктивного порівняння процесів дозрівання грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантату м'язово-апоневротичного шару, між обома дослідними групами, нами проведено морфометричне дослідження.

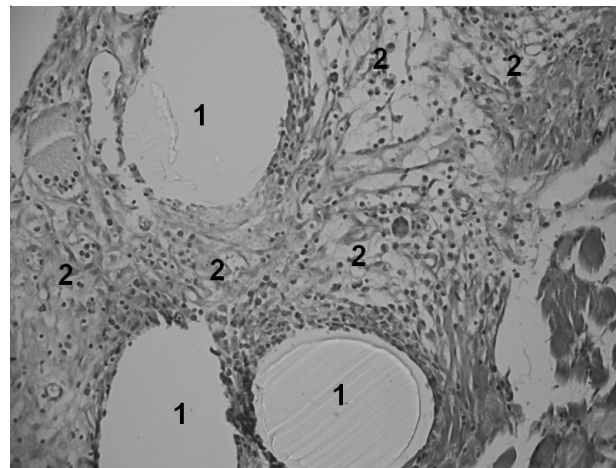


Рис. 4. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура на третю добу після імплантації сітчастого алотрансплантату та застосування гіалуронової кислоти (основна група). Елементи сітчастого імплантату (1). Велика кількість незрілих тонкостінних судин та колагенових волокон навколо елементів сітчастого імплантату (2). Забарвлення водним блакитним - хромотропом 2 В. Об. 10х. Ок. 10х

основної групи спостерігається менша кількість фібрину в грануляційній тканині (рис. 5, рис. 6).

Отримані результати на сьому добу спостереження вказують про перевищення питомого

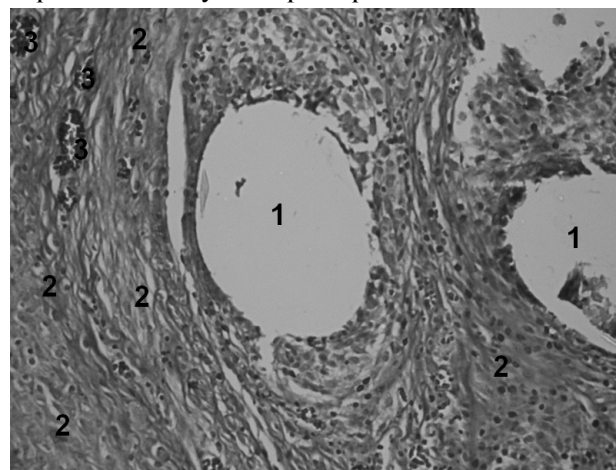


Рис. 6. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура на п'яту добу після імплантації сітчастого алотрансплантату та застосування гіалуронової кислоти (основна група). Елементи сітчастого імплантату (1). Велика кількість клітин та колагенових волокон грануляційної тканини (2). Судини грануляційної тканини (3). Забарвлення водним блакитним - хромотропом 2 В. Об. 10х. Ок. 10х

Представлені в табл. 1 результати дослідження оптичної густини забарвлених колагенових волокон водним блакитним вказують на переважання показників в основній групі тварин, за виключенням третьої доби спостереження де ця різниця невірогідна. Також, в обох групах тварин відмічається зростання оптичної густини забарвлених колагенових волокон у динаміці, тобто впродовж всього терміну дослідження, проте у тварин групи порівняння показники сьомої доби спостереження невірогідні проти п'ятої.

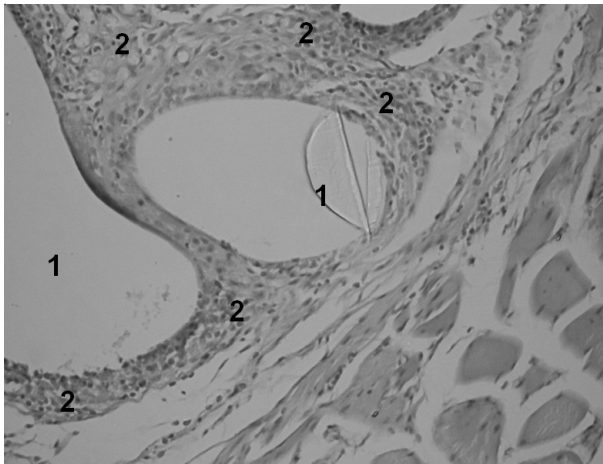


Рис. 7. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура групи порівняння на сьому добу після імплантації сітчастого алотрансплантату. Елементи сітчастого імплантату (1). Шар грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантату (2). Гематоксилін і еозин. Об. 10х. Ок. 10х

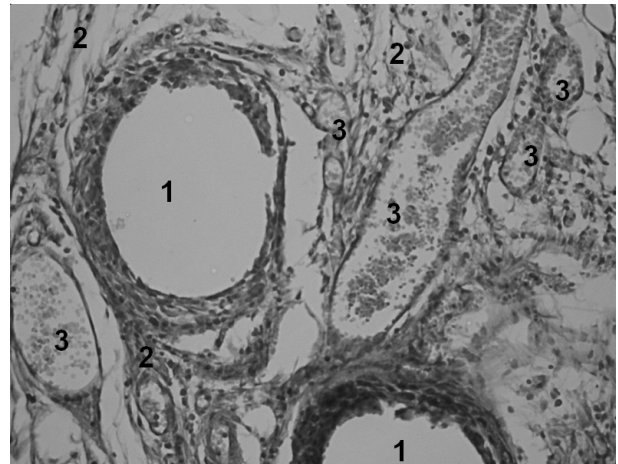


Рис. 8. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура групи порівняння на сьому добу після імплантації сітчастого алотрансплантату. Елементи сітчастого імплантату (1). Коллагенові волокна навколо елементів сітчастого імплантату (2). Велика кількість тонкостінних судин (3). Забарвлення водним блакитним-хромотропом 2 В. Об. 10х. Ок. 10х

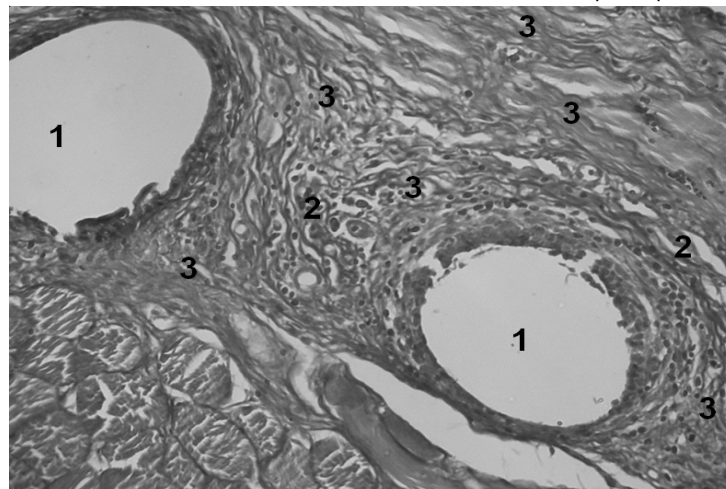


Рис. 9. Фото мікропрепарату передньої черевної стінки щура на сьому добу після імплантації сітчастого алотрансплантату та застосування гіалуронової кислоти (основна група). Елементи сітчастого імплантату (1). Тонкостінні судини (2). Велика кількість колагенових волокон навколо елементів сітчастого імплантату (3). Велика кількість незрілих судин. Забарвлення водним блакитним-хромотропом 2 В. Об. 10х. Ок. 10х

Таблиця 1

Оптична густина забарвлених колагенових волокон водним блакитним, в. од. опт. густини

Група тварин	Термін після виконання оперативного втручання		
	3 доба	5 доба	7 доба
Порівняння	0,21 ± 0,011 n=8	0,28 ± 0,012 n=8 *	0,29 ± 0,012 n=7
Основна	0,24 ± 0,009 p>0,05 n=12	0,34 ± 0,011 p<0,01 n=10 *	0,42 ± 0,012 p<0,001 n=9 *

Примітки: n – кількість спостережень; p – різниця між обома дослідними групами; * – вірогідна різниця проти показників попереднього терміну спостереження

Аналізуючи питомий об'єм колагенових волокон, що наведено в табл. 2, слід зазначити вірогідно вищі показники у тварин основної групи, за винятком третьої доби спостереження, де ця різниця невірогідна. В обох групах тварин, впродовж всього терміну дослідження відмічається вірогідна динаміка зростання питомого об'єму кола-

генових волокон.

Оцінюючи результати дослідження питомого об'єму кровоносних судин в грануляційній тканині, які представлені в табл. 3, слід відмітити вірогідно нижчі показники у тварин основної групи на п'яту та сьому добу спостереження. Впродовж всього терміну дослідження, в обох дослідних

Таблиця 2

Питомий об'єм колагенових волокон на одиницю площі грануляційної тканини, %

Група тварин	Термін після виконання оперативного втручання		
	3 доба	5 доба	7 доба
Порівняння	8,13 ± 0,854 n=8	24,13 ± 0,833 n=8 *	44,29 ± 0,865 n=7 *
Основна	8,33 ± 0,555 p>0,05 n=12	48,3 ± 0,844 p<0,001 n=10 *	68,11 ± 0,889 p<0,001 n=9 *

Примітки: n – кількість спостережень; p – різниця між обома дослідними групами; * – вірогідна різниця проти показників попереднього терміну спостереження

Таблиця 3

Питомий об'єм кровоносних судин в грануляційній тканині, %

Група тварин	Термін після виконання оперативного втручання		
	3 доба	5 доба	7 доба
Порівняння	18,13 ± 0,854 n=8	9,25 ± 0,75 n=8 *	7,14 ± 0,738 n=7
Основна	16,08 ± 0,848 p>0,05 n=12	6,2 ± 0,742 p<0,05 n=10 *	4,33 ± 0,601 p<0,05 n=9

Примітки: n – кількість спостережень; p – різниця між обома дослідними групами; * – вірогідна різниця проти показників попереднього терміну спостереження

групах, має місце зниження питомого об'єму кровоносних судин в грануляційній тканині, з вірогідною різницею показників тільки проти третьої доби спостереження.

Отже, місцеве застосування гіалуронової кислоти при пластиці передньої черевної стінки сітчастим імплантатом впродовж перших трьох діб раннього післяопераційного періоду не впливає на морфологію грануляційної тканини, за виключенням того, що зменшується кількість фібрину. Впродовж наступних чотирьох діб раннього післяопераційного періоду, гіалуронова кислота призводить до значного збільшення кількості колагенових волокон навколо елементів сітчастого імплантату, їх щільності, проте кількість клітин майже не змінюється, що є не зовсім логічним з точки зору патофізіології ранового процесу. Також, у дані терміни гіалуронова кислота позитивно впливає на зменшення питомого об'єму кровоносних судин у грануляційній тканині.

Таким чином, підсумовуючи результати дослідження, слід відмітити позитивний вплив застосування гіалуронової кислоти на морфологію грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантату. Так, впродовж перших трьох діб раннього післяопераційного періоду, гіалуронова кислота позитивно впливає на процеси асептичного запалення спричинені операційною травмою, наявністю стороннього тіла в тканинах передньої черевної стінки. Впродовж наступних термінів раннього післяопераційного періоду гіалуронова кислота значно зміцнює м'язово-апоневротичний шар передньої черевної стінки навколо

елементів сітчастого імплантату.

Виявлений позитивний вплив гіалуронової кислоти на морфологію грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантату необхідно враховувати при проведенні подальших експериментально-клінічних досліджень, спрямованих на попередження розвитку післяопераційної евентрації, особливо у хворих на злоякісні новоутворення органів черевної порожнини.

Висновок

Місцеве застосування гіалуронової кислоти при пластиці передньої черевної стінки сітчастим імплантатом призводить до збільшення питомого об'єму та щільності колагенових волокон навколо елементів останньої, тим самим укріплює передню черевну стінку, а також зменшує запальні процеси в тканинах, спричинені операційною травмою.

Перспективи подальших досліджень

Вважаємо за доцільне вивчити вплив місцевого застосування гіалуронової кислоти на особливості морфології грануляційної тканини навколо елементів сітчастого трансплантата м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки на тлі злоякісного новоутворення м'яких тканин.

Література. 1.Воровський О.О. Превентивна абдомінопластика з використанням поліпропіленового протеза під час первинної лапаротомії у хворих похилого й старечого віку як спосіб профілактики післяопераційних дефектів черевної стінки / О.О. Воровський // Клін. хірургія. - 2013. - № 11. - С34-37. 2. Ильченко Ф. Н. Особенности протез-

зирующей герниопластики при послеоперационных грыжах брюшной стенки с размещением имплантата в "sub lay"-позиции / Ф.Н. Ильченко // Хірургія. - 2008. - № 2. - С. 35. 3. Корекція дисплазії сполучної тканини при лікуванні післяопераційних гриж черевної стінки / С.Г. Четверіков, В.Ю. Вододюк, Ю.В. Срьомін [та ін.] // Клін. хірургія. - 2012. - № 1. - С. 23-25. 4. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров. - Санкт-Петербург : СпецЛит., 2010. - 96 с. 5. Место сетчатых имплантатов в профилактике эвентрации органов брюшной полости после радикальной цистэктомии / В.А. Атдурев, Х.М. Мамедов, В.В. Шутов [и др.] // Мед. альманах. - 2010. - № 4 (13). - С. 238-241. 6. Проблема эвентрації у невідкладній хірургії / О.С. Антонюк, В.В. Ахрамєєв, П.Ф. Головня [та ін.] // Медицина транспорту України. - 2005. - № 1. - С. 50-52. 7. Профілактика ускладнень з боку операційної рани після алогерніопластики / О.В. Чиньба, В.Г. Яуєнтюк, В.О. Дубенець // Львівський мед. часопис. - 2009. - Т. XV, № 3. - С. 32-34. 8. Слюсар Г.В. Динаміка імунологічних показників крові собак за різних методів лікування шкірно-м'язових ран / Г.В. Слюсар // Вісн. СумДУ, Серія "Медицина". - 2012. - № 1. - С. 38-42. 9. Соколова М.А. Роль гиалуроновой кислоты в организме человека / М.А. Соколова // Мезотерапия. - 2009. - № 8. - С. 6-12.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ГРАНУЛЯЦИОННОЙ ТКАНИ ВОКРУГ ЭЛЕМЕНТОВ СЕТЧАТОГО ИМПЛАНТАТА ПЕРЕДНЕЙ БРЮШНОЙ СТЕНКИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*И.К. Морар, А.И. Иващук, И.С. Давиденко, В.В. Власов,
В.Ю. Бодяка*

Резюме. В данной статье представлено результаты экспериментального исследования влияния местного применения гиалуроновой кислоты на особенности формирования грануляционной ткани вокруг элементов сетчатого имплантата мышечно-апоневротического слоя передней брюшной стенки.

Установлено, что местное применение гиалуроновой кислоты, при пластике передней брюшной стенки сетчатым имплантатом, приводит к увеличению удельного веса и плотности коллагеновых волокон вокруг элементов последнего, тем самым укрепляет переднюю брюшную стенку, а также уменьшает воспалительные процессы в тканях причиненных операционной травмой.

Ключевые слова: гиалуроновая кислота, мышечно-апоневротический слой, грануляционная ткань.

PECULIARITIES OF GRANULATION TISSUE FORMATION ROUND THE ELEMENTS OF RETICULAR IMPLANT OF THE ANTERIOR ABDOMINAL WALL WHEN USING HYALURONIC ACID IN EXPERIMENT

*I.K. Morar, O.I. Ivashchuk, I.S. Davydenko, V.V. Vlasov,
V.Yu. Bodiaka*

Abstract. The results of experimental research of the local use influence of hyaluronic acid on peculiarities of granulation tissue formation round the elements of reticular implant of the muscular-aponeurotic layer of the anterior abdominal wall are presented in this article.

The research was carried out on 54 laboratory rats which were implanted by reticular implant into the muscular-aponeurotic layer of the anterior abdominal wall. Gel of hyaluronic acid in the form of LACERTA 1,5% preparation of YURIFARM was applied along the surface of reticular implant to the animals of the main group. The group of comparison consisted of animals which had been just implanted by the reticular implant into the muscular-aponeurotic layer of the anterior abdominal wall. Material sampling was carried out on the 3th, 5th and 7th day following the operative interference by means of cutting tissues together with reticular implant. Parafine sections were coloured with hematoxyline and eosine, as well as water blue-chromotop 2 B according to N.Z. Slinchenko. Descriptive method of the detected pathomorphological changes was used. Morphometry was carried out with the help of computer microdensitometry.

The obtained data of the investigation are evidence that local use of hyaluronic acid in plastics of the anterior abdominal wall with reticular implant during the first five days of early post-operative period do not influence upon formation of granulation tissue formation with the exception that it decreases the quantity of fibrinogen. During the next 4 days of early post-operative period, hyaluronic acid results in significant increase of the quantity of collagenous fibres round the elements of reticular implant and their density, however, the quantity of cells almost did not change, that is not quite logical from the point of view of pathophysiology of the wound process. Hyaluronic acid also positively influence on decreasing specific gravity of the blood vessels in granulation tissue during the given periods.

Thus, local use of hyaluronic acid in case of plastics of the anterior abdominal wall by reticular implant results in specific gravity increase and density of collagenous fibers round the elements of the latter ones, strengthening, in this way, the anterior abdominal wall and decreasing also inflammatory processes in the tissues, caused by operative trauma.

Key words: hyaluronic acid, muscular-aponeurotic layer, granulation tissue.

Higher State Educational Establishment of Ukraine

"Bukovinian State Medical University", Chernivtsi;

**Vinnytsya N.I. Pirogov National Medical University
(Vinnytsya)**

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №2 (52). - P.120-125.

Надійшла до редакції 18.05.2015

Рецензент – проф. І. В. Шкварковський

*© I.K. Morar, O.I. Ivashchuk, I.S. Davydenko, V.V. Vlasov,
V.Yu. Bodiaka, 2015*