

*Шакмаков А.А., Медведева С.Ю.*

## Устойчивость тканей матки к криовоздействию

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, МУ ЦГБ № 20, г. Екатеринбург

*Shakmakov A.A., Medvedeva S.Y.*

### The uterus tissues tolerance to the cryo-exposure

#### Резюме

В эксперименте на 40 белых беспородных крысах показана различная устойчивость тканей матки и ее связей к криовоздействию при температуре – 1700С. Доказана зависимость морфологических изменений в тканях от экспозиции криовоздействия и типа ткани. Сделан вывод о том, что нервная ткань матки обладает большей чувствительностью к низким температурам. Данная зависимость позволяет при определенных параметрах криовоздействия добиться избирательной криоденервации матки при отсутствии выраженных изменений в органе и без нарушения его функции.

**Ключевые слова:** матка, криовоздействие, морфологические изменения

#### Summary

The experiment including 40 white non pedigree rats showed different tolerance of the uterus tissues and ligaments to the cryo-exposure at the temperature of -1700C. There is an evidence of the morphological changes dependence on the duration of exposure and type of tissue. The conclusion that the neural tissue is more sensitive to the low temperature was made. This relation under certain parameters allows us to achieve selective cryo-denervation without disturbing the function of the uterus and any changes in the organ.

**Key words:** uterus, cryo-exposure, morphological changes

#### Введение

Особым методом хирургического воздействия на ткани является глубокий холод (температуры – 160 - 1800С). Действие этих температур на живую ткань имеет ряд специфических особенностей, которые с успехом используются в медицинской практике. К этим свойствам относят их обезболивающий, противовоспалительный, иммуномодулирующий эффект и такие положительные свойства, как бескровность, малая травматичность воздействия и многие другие [1]. Ткани после криовоздействия в основном восстанавливаются путем органотипической регенерации [3, 4]. Многими авторами отмечено, что различные ткани обладают разной устойчивостью к холодовому воздействию. Так кровеносные сосуды сохраняются даже при длительной (до 3 минут) экспозиции, нервные же волокна погибают при экспозициях в несколько секунд [2, 5]. Но в то же время процесс крионекроза протяжен во времени и границы крионекроза могут быть определены впоследствии гистологически. Поэтому, для каждой новой методики криовоздействия, перед клиническим применением необходимо экспериментальное обоснование с объективными морфологическими доказательствами [6]. Имея своей задачей применить низкие температуры для денервации матки, мы провели эксперимент по изучению действия глубокого холода на различные ткани матки в зависимости от экспозиции в разные сроки после воздействия.

**Цель исследования** – изучив структурные изменения тканей матки после криовоздействия, определить такие его параметры, которые бы позволили добиться стойкой денервации без выраженных структурных изменений органа и нарушений его функции.

#### Материал и методы

Для определения степени устойчивости различных тканей матки к криовоздействию нами был проведен эксперимент на 40 самках беспородной белой крысы. Криовоздействие выполнялось при постоянной температуре и изменяемой экспозиции.

Под эфирным наркозом проводилось чревосечение и воздействие на матку и ее брыжейку криодеструктором при температуре минус 1700С и экспозицией 2, 6 и 8 секунд. Животных выводили из опыта на 1, 7 и 14 сутки после операции, после чего изучали характер структурных сдвигов в брыжейке матки, периметрии, сосудистом слое, миометрии и эндометрии. Было изучено 420 гистологических препаратов с окраской гематоксилин-эозином, по Ван-Гизону – Вейгерту и суданом В. В зависимости от экспозиции животные были распределены на 4 группы (Таблица 1).

#### Результаты и обсуждение

В брыжейке матки на первые сутки после криовоздействия в I группе животных (экспозиция 2 сек.) жи-

Таблица 1. Распределение экспериментальных животных по группам

Группа	Экспозиция (сек.)	n
I	2	10
II	6	10
III	8	10
IV (группа сравнения)	Чревосечение без криводействия	10

вой ткани брыжейки изменений не отмечено. В прослойках соединительной ткани очаговые некрозы с разрушением стенок капилляров, сохранением целостности венул и артериол. Очаговая деструкция нервных волокон. При экспозиции 6 секунд отмечались, в отличие от I группы очаговые некрозы жировой ткани (стеатонекроз). Очаговые некрозы в соединительнотканых прослойках были более выражены, чем при меньшей экспозиции, что выражалось в мукондном набухании коллагеновых волокон, фрагментации и набухании эластических волокон, нервные волокна были некротизированы с сохранением единичных структур периневрия. В III группе (экспозиция 8 сек.) некрозы, как в жировой, так и в соединительной ткани были обширнее, определялись периваскулярные лимфоидные инфильтраты с примесью гранулоцитарных лейкоцитов и тучных клеток. Структуры нервного волокна были фрагментированы по всей площади криводействия и подвергались глыбчатому распаду (Рисунок 1).

В периметрии и серозном покрове матки на первые сутки при экспозиции 2 сек. (I группа) изменения аналогичны брыжейке. В связи с меньшим количеством жировой ткани преобладают признаки экссудативной реакции: полнокровные сосуды с капилляростазом и лейкостазом, в части сосудов определяется лейкодиapedез, в перифокальной области обнаруживается отек, деструкция нервных волокон с очаговым сохранением структур периневрия. Повреждений мезотелия серозной оболочки не обнаружено. Во II группе (6 сек.) степень структурных изменений в соединительной ткани был больше по сравнению с предыдущей группой. Наблюдался некроз нервных волокон с сохранением единичных структур периневрия. В III группе к описанной картине добавлялись периваскулярные лимфоидные инфильтраты с примесью гранулоцитарных лейкоцитов и тучных клеток. Нервные волокна были фрагментированы и подвергались распаду во всех полях зрения.

В сосудистом слое у животных I группы наблюдались нарушение микроциркуляции, в мелких сосудах капилляростаз. Крупные артериолы сохраняли структурную целостность. Умеренные признаки отека в интерстиции. Частичная очаговая деструкция нервного волокна. Во II группе (6 сек.) наблюдалось еще также развитие в части сосудов сладж-синдрома и периваскулярной клеточной реакции. Выраженные признаки отека в интерстиции. Более выраженная деструкция нервного волокна. В III группе дополнительно наблюдалась периваскулярная клеточная реакция. При этом разрушение нервного волокна были в виде фрагментации на больших участках, чем при экспозиции в 6 секунд.

В наружном слое миометрия у животных с экспозицией 2 сек. развивался умеренно выраженный интерсти-

циальный отек и клеточная реакция, которая выражалась миграцией полиморфноядерных лейкоцитов. Определялась очаговая миомаляция гладкомышечных клеток, очаговая фрагментация миелиновых оболочек нервных волокон (Рисунок 2). Во II группе в эндометрии определялся выраженный отек с миграцией полиморфноядерных лимфоцитов как в первой группе. Определялась на небольших участках очаговая миомаляция, развитие интерстициального отека, без клеточной экссудативной реакции. Нервные волокна с очаговым лизисом эндоневрия. Периневрий был сохранен на отдельных участках. В III группе очаги миомаляции более выражены, чем во второй группе. Нервные волокна с разрушенным эндоневрием и периневрием.

Во внутреннем слое миометрия в I группе структурных изменений обнаружено не было, во II группе на небольших участках очаговая миомаляция гладкомышечных клеток, развитие интерстициального отека, без клеточной экссудативной реакции. Отдельные участки нервного волокна с очаговым лизисом эндоневрия и периневрия. В III группе животных (8 сек.) изменения мало отличались от предыдущей группы. На отдельных участках экссудация сопровождалась клеточной реакцией.

В эндометрии во всех группах животных изменений не было выявлено.

Таким образом, нами было установлено, что через одни сутки после криводействия во всех экспериментальных группах животных развиваются структурные изменения в тканях брыжейки, периметрия и миометрия матки, которые зависят от экспозиции. Изменения были более выражены в нервной ткани. Структурные изменения мелких сосудов и нервных волокон в брыжейке, периметрии и сосудистом слое были более выражены в группе животных с экспозицией в 8 секунд. Нарушение кровообращения и иннервации структур матки приводило к развитию тканевой гипоксии и увеличению площади поражения, но при этом не происходило грубых некротических изменений в миометрии и эндометрии. Сохранялась целостность органа.

На седьмые сутки после криводействия в брыжейке матки у животных I группы в жировой ткани изменений по сравнению с контрольной группой не было обнаружено. В соединительнотканых прослойках с проходящими в них сосудами и нервами сохранялись нарушения со стороны сосудов микроциркуляции, отдельные очаги некроза замещались элементами рыхлой соединительной ткани. При этом в перифокальной области была выражена макрофагальная реакция, определялись клетки инородных тел, очаги ангиогенеза. В структурах нервного волокна определялась пролиферация шванновских клеток, восстановление осевого цилиндра в части нервных волокон. Во II группе (6 сек.) очаги стеатонекроза начинали замещаться участками рыхлой соединительной

ткани. В соединительно-тканых прослойках определялось полнокровие части сосудов. Макрофагальная реакция была более выражена, чем в первой группе животных. Очаги некроза соединительной ткани начинали замещаться грануляциями на небольших участках при выраженной активности фибробластов. Деструкция нервных волокон сохранялась, только на отдельных участках наблюдалась пролиферация шванновских клеток. В III группе в жировой прослойке брыжейки изменения не отличались от предыдущей группы. В соединительной ткани в сосудах кроме полнокровия отмечалось развитие сладж-синдрома в капиллярах. Также отмечалась выраженная макрофагальная реакция, с появлением клеток инородных тел. Активность фибробластов в грануляциях была выраженной. Деструкция нервных волокон сохранялась. Признаков регенерации нервного волокна не было.

В периметрии у животных с экспозицией 2 сек. (I группа) в жировой ткани изменений не обнаружено. Сохранялся умеренно выраженный интерстициальный отек в прослойках соединительной ткани. Определялись небольшие очаги грануляционной ткани с признаками выраженной функциональной активности фибробластов. Также отмечалось частичное восстановление нервного волокна в виде единичных участков пролиферации шванновских клеток. Во II группе некрозы в жировой ткани начинали замещаться грануляциями. В соединительной ткани сохранялся умеренно выраженный интерстициальный отек, расширение просвета части сосудов и их полнокровие. Некроз и фрагментация нервного волокна сохранялась, при этом процессы регенерации, как и в брыжейке, ограничивались пролиферацией шванновских клеток на небольших участках. В III группе (8 сек.) в грануляциях скопления активных фибробластов. В соединительной ткани сохранялись очаговые некрозы и кровоизлияния. Лимфоидные инфильтраты подвергались постепенной редукции. Деструкция нервного волокна сохранялась, и признаков его регенерации не наблюдалось.

В сосудистом слое животных с экспозицией 2 сек. наблюдалось полнокровие части сосудов, и определялись очаги ангиогенеза. Признаки отека в интерстиции сохранялись. Структуры нервных волокон были с признаками регенерации, что выражалось пролиферацией шванновских клеток и процессах миелинизации. Во II группе изменения отличались тем, что сохранялся умеренно выраженный интерстициальный отек, расширение просвета части сосудов и их полнокровие. Процессы регенерации нервной ткани в виде пролиферации шванновских клеток лишь на небольших участках. В III группе картина была сходной, также отмечалось разрешение гранулоцитарных инфильтратов, но деструкция нервного волокна сохранялась, и признаков его регенерации не наблюдалось.

В наружном слое миометрия в I группе в мышечных волокнах структурные изменения были минимальны. В эндомизии определялся небольшой отек, полнокровные сосуды и очаговые кровоизлияния. В области очагов миомалации начинались процессы восстановления за счет гиперплазии лейомиоцитов. В структурах нервного волокна при фрагментации миелиновой оболочки отмечалась пролиферация шванновских клеток. У животных с экспозицией 6 сек. обнаруживались очаговые грануляции в эндомизии с признаками

функциональной активации фибробластов. В гладкомышечном волокне активация камбиальных клеток. Очаги миелинизации нервного волокна нарушенной структурой эндоневрия. В III группе процессы восстановления миометрия были схожими, но сохранялся отек в эндомизии. Нервные волокна на отдельных небольших участках были с признаками частичной неполноценной регенерации без миелинизации. Отмечалась глыбчатая структура нервных волокон.

Во внутреннем слое миометрия в I группе изменений обнаружено не было, во II группе сохранялись очаги миомалации с признаками активации камбиальных клеток. В эндомизии сохранялся умеренно выраженный отек. На участках лизиса нервного волокна пролиферация шванновских клеток. В III группе картина не отличалась от таковой, при экспозиции 6 сек.

Признаков изменений в эндометрии не было обнаружено.

Следовательно, на седьмые сутки после кровоизлияния при гистологическом исследовании были обнаружены признаки регенерации поврежденных структур. Степень их зависела от времени экспозиции. Воздействие в течение 8 с. приводило к выраженным структурным изменениям нервного волокна, и на седьмые сутки мы не наблюдали процессов полноценного его восстановления. Восстановление окружающих тканей (миометрия и сосудов) шло быстрее, и было, в основном, органоспецифическим без грубых рубцовых изменений.

На четырнадцатые сутки после кровоизлияния в брыжейке матки в I группе животных процессы регенерации были близки к своему завершению. В жировой ткани изменений не наблюдалось. В соединительной ткани сохранялись нарушения со стороны сосудов микроциркуляции только в виде расширения просвета сосудов и очагового полнокровия. Умеренно выраженный интерстициальный отек. Отдельные очаги некроза в брыжейке на данном сроке были замещены рыхлой соединительной тканью, в которой определялись фибробласты в состоянии выраженной функциональной активности, что косвенно говорит о том, что формирования грубой рубцовой ткани не происходило. Были видны формирующиеся и сформированные collagenовые волокна. Регенерация нервного волокна с пролиферацией шванновских клеток. Полноценного осевого цилиндра не формировалось. Во II группе (экспозиция 6 сек.) в жировой ткани брыжейки наблюдалось замещение участков некроза рыхлой соединительной тканью. В соединительно-тканых прослойках сохранялось полнокровие сосудов с отдельными очагами сладж-синдрома. Ангиогенез в стадии завершения. Грубых рубцовых изменений не наблюдалось. В области бывших некротических изменений рыхлая соединительная ткань. Нервные волокна в периваскулярной области в большинстве случаев не определялись. При экспозиции 8 сек. (III группа) в жировой ткани изменения были аналогичны. В соединительно-тканых прослойках в части сосудов микроциркуляции обнаруживались признаки сладж-синдрома, расширение просвета сосудов, дистрофические изменения клеток эндотелия. Формировались капилляры и сосуды синусоидального типа. Очаги

некроза был замещены рыхлой соединительной тканью без формирования грубых рубцов. Структур нервных волокон обнаружено не было.

В периметрии картина восстановительных процессов была сходна с тканями брыжейки. Различия между группами заключались в степени регенерации нервного волокна: в I группе отмечались признаки регенерации в виде пролиферации шванновских клеток, миелинизации нервных волокон. Элементы эндоневрия и периневрия определялись фрагментарно; во II группе в интерстициальной ткани обнаруживались лишь отдельные фрагменты нервных волокон с признаками пролиферации шванновских клеток; в III группе нервные волокна сохраняли признаки деструкции в виде фрагментации с дистрофическими изменениями шванновских клеток и нарушенной структурой эндоневрия.

В сосудистом слое I группы микрососуды были в завершающей стадии ангиогенеза. В интерстиции сохранялись минимальные признаки отека. Со стороны нервного волокна отмечались признаки регенерации в виде пролиферации шванновских клеток, выраженной миелинизации нервных волокон. Во II группе периваскулярно определялись очаги фиброза с рыхлой соединительной тканью. Наблюдалось восстановление микроциркуляции при фрагментации нервных волокон. При экспозиции в 8 сек. в сосудах микроциркуляции обнаруживались очаги ангиогенеза, скопления пролиферирующих фибробластов периваскулярно. Нервные волокна в большинстве своем фрагментированы без признаков восстановления.

В наружном слое миометрия структурных изменений пучков мышечных волокон в I группе обнаружено не было за исключением небольших участков гиперплазии миоцитов. В эндомизии отдельные очаги ангиогенеза. В нервном волокне завершение этапа миелинизации. Во II группе в структурах эндомизии отмечалось небольшое разрастание коллагеновых волокон без грубых рубцовых изменений. Мышечные волокна восстанавливались в основной массе за счет гипертрофии лейомиоцитов. В нервной ткани очаги склероза периневрия и фрагментация нервного волокна. В III группе в эндомизии определялись очаги рыхлой соединительной ткани с прорастанием капилляров из сосудистой оболочки. Восстановление основной массы миометрия происходило путем гипертрофии лейомиоцитов. В структурах нервного волокна определялись очаги склероза в периневрии и эндоневрии, что приводило к

атрофии осевого цилиндра, либо резкому уменьшению его диаметра. Наблюдались также участки варикозного утолщения нервного волокна (Рисунок 3).

Во внутреннем слое миометрия при экспозиции 2 сек. (I группа) изменений не было, во II и III группах они были минимальными и схожими (Восстановление мышечных волокон без формирования соединительнотканного рубца). В нервной ткани процессы миелинизации наблюдались на отдельных участках, отсутствовал осевой цилиндр.

В эндометрии изменений не было.

Итак, регенеративные процессы на 14-е сутки имели следующие особенности: восстановление соединительнотканых структур всех слоев шло без формирования грубого рубца за счет рыхлой соединительной ткани. В сосудистых структурах, в основном, завешались процессы полноценного ангиогенеза. Миометрий восстанавливался за счет активности кадимальных клеток с формированием лейомиоцитов. Ни в одном случае не происходило перфорации органа. В нервной ткани регенерация не происходила, за исключением глубоких слоев при малой экспозиции в 2 секунды, где она все же была неполноценна.

Две особи после криовоздействия с экспозицией 8 секунд не были выведены из опыта, а на 21 сутки помещены в виварий. Обе особи в дальнейшем принесли потомство.

## Выводы

Таким образом, нами были определены параметры, при которых в тканях матки и ее связок происходила стойкая денервация без выраженных изменений в окружающих тканях. Причем восстановление структур функционально важных тканей происходило органоспецифически.

Таковыми параметрами является экспозиция 8 секунд при температуре - 1700С. Эта экспозиция дает гарантированную стойкую денервацию, в то же время не приводит к выраженным изменениям в окружающих тканях матки, которые в дальнейшем восстанавливаются без ущерба для своей функции.■

*Шакмаков А.А., Медведева С.Ю., ГУО ВПО «Уральская Государственная Медицинская академия Росздрава», Екатеринбург, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, МУ ЦГБ № 20, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку – Шакмаков А.А. e-mail: ale-shakmakov@yandex.ru*

## Литература:

1. Будрик В.В. Физические основы криометодов в медицине. // Медицинская криология. Вып.5. Сборник научных трудов под ред. Д.м.н. Коченова В.И. Н.Новгород, 2004. С. 35-101.
2. Виноградов О.А. Возможности применения селективной проксимальной криовагоденервации желудка при лечении больших с острыми язвами и синдром Маллори-Вейса, осложненными кровотечениями. // автореферат дисс. Канд. Мед. Наук, Екатеринбург, 2008.- 28 С.
3. Дамиров М.М. Лазерные, криогенные и радиоволновые технологии в гинекологии. – М. ООО «БИНОМ-Пресс», 2004.- 176 С.
4. Дамиров М.М., Заборский В.М. Современные технологии криогенного лечения гинекологических заболеваний. Пособие для врачей. М., 2008.- 39 с.
5. Козлов В.А., Макарович А.Г., Медведева С.Ю. Морфологическое обоснование применения различных эффектов криовоздействия в клинической практике. // Медицинская криология. Вып. 6. Н Новгород 2006. С. 52 -58.
6. Темнова И.В., Артифкецова А.А., Цьбусова Т.Н. и др. Экспериментальное исследование ранних критериев прогноза ливни крионекроза внутри тканей после деструкции кожи и перевивных опухолей у животных. // Медицинская криология. Вып.7. Сборник научных трудов под ред. Д.м.н. Коченова В.И., Н.Новгород, 2009. с.177 – 186