

Особенности репаративных процессов передней брюшной стенки в зоне имплантации эндопротезов при различных видах диссекции тканей

Куракина И.С., ординатор кафедры хирургии и эндоскопии УГМАДО, г. Челябинск
Пряхин А.Н., д.м.н., доцент кафедры хирургии и эндоскопии УГМАДО, г. Челябинск
Астахова Л.В., к.м.н., научный сотрудник отдела фундаментальных исследований Челябинского государственного института лазерной хирургии, г. Челябинск
Гиниатуллин Р.У., д.м.н., профессор, руководитель отдела фундаментальных исследований Челябинского государственного института лазерной хирургии, г. Челябинск

Features of anterior abdominal wall's reparative processes in the zone of implantation of endoprosthesis for different kinds of tissues dissection

Kurakina I.S., Pryahin A.N., Astahova L.W., Giniatullin R.U.

Резюме

Приведены результаты 45 экспериментальных герниопластик с предварительным применением высокоинтенсивного лазерного излучения, высокочастотной электроэнергии и ультразвукового скальпеля. Морфологические изменения в окружающих тканях были связаны, прежде всего, с воспалительной реакцией на инородное тело. Характер выявленных изменений в целом был стереотипен, однако различался по выраженности в зависимости от способа обработки места имплантации. После применения лазерного излучения наблюдались определенные закономерности в динамике заживления раны: кратковременное развитие остро воспалительного процесса (до 7 суток), более низкое содержание нейтрофильных гранулоцитов во все сроки исследования, раннее формирование рубца (с 14-х суток) с дальнейшим развитием нормотрофической рубцовой ткани (с 30-х суток). К 90-м суткам эксперимента в зоне имплантации формировался полноценный и эластичный рубец, который мог способствовать образованию прочной защиты в зоне хирургической реконструкции передней брюшной стенки при грыжевых дефектах. **Ключевые слова:** высокоинтенсивное лазерное излучение, ультразвуковой скальпель, высокочастотная электроэнергия, эндопротез

Summary

There were the results of 45 experimental hernioplasties with a preliminary application of high-intensive laser radiation, high-frequency electrocautery and supersonic scalpel. Morphological changes in the surrounding tissues have been connected primarily with the inflammatory response to the debris. The nature of the diagnosed changes in general was stereotypic, but it varied in the intensity depending on the method of manipulation of the implantation site. Distinct regularities in the dynamics of wound repair were observed after application of the laser radiation: a short-term development of acute inflammatory process (up to 7 days), lower content of neutrophils in all periods of analysis, early scar formation (14 days) with the further development of normotropic scar tissue (30-th day). By the 90th day of the experiment in the area of implantation a full-fledged and flexible scar were forming, that may favor to the formation of solid protection in the area of surgical reconstruction of the anterior abdominal wall in the presence of hernia defects.

Key words: High-intensive laser radiation, supersonic scalpel, high-frequency electrocautery, endoprosthesis

Введение

В хирургическом лечении больных с наружными грыжами живота в последние годы достигнуты значительные успехи, связанные с использованием современных эндопротезов,

среди которых лидирующее положение занимают изделия из полипропилена. Однако опыт применения полипропиленовых эндопротезов показал, что в послеоперационном периоде у пациентов могут возникать чувство давления и боль в области операции, снижение подвижности передней брюшной стенки, нарушение функции брюшного пресса, сморщивание эндопротеза и возникновение рецидива грыжи [2, 8, 9, 11, 12].

Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение особенностей приживления сетчатых эндопротезов после обработки места имплантации высокоинтенсивным лазерным, ультразвуковым излучением и с помощью высокочастотной электроэнергии.

Ответственный за ведение переписки -

Куракина Ирина Сергеевна,

454021, г. Челябинск, проспект Победы 287,

Телефоны: (351) 721-27-46 (раб.), 731-30-30 (дом.),

8-905-83-04-274

E-mail: shestopalowa.ru@mail.ru

Материалы и методы

Экспериментальное исследование проведено на 45 лабораторных крысах-самцах весом 180-200 г. Все животные были получены от одного поставщика. Хирургические операции животным производили в асептических условиях. Во время имплантации эндопротезов животные были анестезированы ромитаром, а в некоторых случаях использовали дополнительно дроперидол и реланиум. В качестве имплантатов использовали монофилamentный макропористый протез из полипропилена "Surgipro mesh" серии SPMM фирмы "Auto Suture".

Для выполнения в ходе экспериментальных операций диссекции тканей и остановки кровотечения нами были использованы высокочастотная электроэнергия, ультразвуковой скальпель и высокоинтенсивное лазерное излучение – как наиболее часто применяемые способы физического воздействия на ткани передней брюшной стенки в современной герниологии [7].

В качестве источника высокочастотной электроэнергии использовался электрохирургический генератор «ЭХВЧ-МТУСИ» (Россия) с рабочей частотой 470 кГц, максимальной мощностью 75 Вт. Был выбран биполярный контактный режим воздействия (электрохирургический пинцет с узкими браншами) – наиболее безопасный для животного в отношении электрохирургических осложнений [7]. Применяли минимальный уровень мощности тока (10 Вт), необходимый для диссекции тканей и осуществления надежного гемостаза.

В качестве источника ультразвуковой энергии применяли аппарат "Harmonic" фирмы "Ethicon Endo-Surgery" с рабочей частотой 55,5 кГц и амплитудой продольных колебаний рабочей части инструмента от 30 до 100 мкм. Ультразвуковую диссекцию и гемостаз тканей выполняли с помощью инструмента типа зажим. Оптимальная амплитуда колебаний зажима 45 мкм (2 уровень мощности из 5 возможных) установлена путем ее пошагового увеличения. Снижение амплитуды колебаний приводило к уменьшению скорости диссекции тканей, увеличение – к снижению гемостатического эффекта [1].

Для диссекции тканей передней брюшной стенки нами был выбран полупроводниковый лазерный прибор «Апо» с длиной волны излучения 980 нм.

Доставка энергии к объектам воздействия производилась с помощью кварц-кварцевых моноволоконных световодов с тефзелевым покрытием с диаметром сердцевины 600 мкм.

С учетом литературных данных [3, 4, 10], для диссекции тканей изначально был выбран импульсный режим работы лазерных приборов с контактным способом воздействия, поскольку при этом достигается максимальный режущий эффект с минимальным термическим воздействием на окружающие ткани. Для коагуляции тканей и остановки кровотечения использовали непрерывный режим работы квантовых генераторов и бесконтактный способ воздействия, что обеспечивало более глубокий и равномерный прогрев тканей с надежным гемостазом [6, 10].

Подбор мощности высокоинтенсивного лазерного

излучения осуществлялся путем постепенного ее увеличения с шагом 1 Вт, начиная с 1 Вт до 4 Вт – величины, при которой желаемый клинический эффект от воздействия (диссекция, коагуляция) сопровождался минимальным термическим повреждением окружающих тканей.

В средней трети передней брюшной стенки производили П-образный разрез кожи с основанием к голове биологического объекта. Кожный лоскут с подкожно-жировой клетчаткой отсепаровывали от апоневроза. Диссекцию тканей и гемостаз выполняли одним трех из выше описанных способов.

Имплантат (размерами 15×12 мм) укладывали на апоневроз и фиксировали в области углов четырьмя узловыми швами нитью "Prolene" фирмы "Ethicon" с условным диаметром 4-0 с атравматическими колющими иглами.

После контроля гемостаза кожно-апоневротический лоскут укладывали на эндопротез, кожу ушивали непрерывным швом капроновыми нитями с условным диаметром 4-0. Дренирование раны не выполняли.

До операции и в послеоперационном периоде все животные содержались на стандартном лабораторном корме с использованием витаминов и минеральных добавок при неограниченном количестве воды. Каких-либо послеоперационных осложнений, связанных с имплантацией инородного тела у животных, мы не наблюдали.

Выведение животных из эксперимента осуществляли ингаляционной передозировкой хлороформа. Все исследования проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», регламентированных в приложении к приказу МЗ СССР №755 от 12.09.77г.

Были исследованы сроки: 1, 7, 14, 30 и 90 сутки после операции. Для гистологического исследования иссекали полнослойные кусочки из передней брюшной стенки, включающие в себя кожу, имплантированный эндопротез и мышцы с париетальной брюшиной. Кусочки фиксировали в 12% растворе нейтрального формалина в течение трех суток при комнатной температуре, затем проводили по спиртам возрастающей концентрации и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином-эозином, пикрофуксинном по Ван-Гизон и Вейгерту. Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Leica DMRXA, Германия. Морфометрические исследования осуществляли с помощью компьютерной программы анализа изображений «ДиаМорф Сито-W», (Россия), путем цифрового преобразования видеозаписи гистологических препаратов и компьютеризированного подсчета параметров выбранных объектов.

Оценку статистической значимости влияния способа воздействия с учётом срока эксперимента проводили в ходе двухфакторного дисперсионного анализа (факторы: «материал» и «время») [5]. Во всех случаях различия считали статистически значимыми при вероятности нулевой гипотезы $P \leq 0,05$, незначимыми – при $P > 0,10$; в промежуточных случаях ($0,05 < P < 0,10$) обнаруженные эффекты обсуждали как тенденции. Расчеты выполнены в пакете KyPlot (v.2.0 beta 15).

Результаты и обсуждение

Выявлялись морфологические изменения в окружающих тканях, связанные, прежде всего, с воспалительной реакцией на инородное тело. Характер выявленных изменений в целом был стереотипен, однако различался по выраженности в зависимости от способа обработки зоны имплантации.

На 1 сутки вокруг эндопротезов регистрировались морфологические изменения, соответствующие первой фазе заживления ран – развития травматического воспаления, связанные с операцией: выраженная в разной степени нейтрофильная инфильтрация и макрофагальная реакция, серозно-фибринозная экссудация, дистрофические изменения и некроз тканей, полнокровие и тромбоз сосудов, диапедезные кровоизлияния, отек межтканочной ткани.

После диссекции тканей высокоинтенсивным лазерным излучением содержание нейтрофильных гранулоцитов было меньше в 1,5 раза, чем после ультразвуковой обработки или электрохирургического воздействия. В то же время количество фибробластов было максимальным после использования лазерного излучения и составило $264 \pm 1,2$ кл./мм² (график 1).

В зоне имплантации на 7-е сутки отмечался рост ка-

пилляров, пролиферация фибробластов, созревание коллагеновых волокон, выраженные в разной степени отек тканей, макрофагальная реакция, формирование гранул инородных тел. Эти изменения свидетельствовали о наличии второй фазы заживления ран – развитии соединительной, в частности грануляционной ткани.

После использования высокоинтенсивного лазерного излучения на 7-е сутки резко снижался воспалительный отек, количество лейкоцитов – $355 \pm 4,2$ кл./мм², в рыхлой незрелой соединительной ткани, окружающей имплантат отмечалось увеличение клеточных элементов в виде фибробластов и макрофагов. При внешнем изучении препаратов установлено, что уже на 7-е сутки окружающие ткани образовывали с эндопротезом рыхлые сращения по всей площади имплантата, наблюдалось отчетливое прорастание созревающей грануляционной ткани сквозь ячейки протеза.

После применения высокочастотной электроэнергии и ультразвукового скальпеля в эти сроки все еще отмечалось полнокровие, более выраженные воспалительные явления в виде массивной лейкоцитарной инфильтрации (количество от $711 \pm 14,1$ до $884 \pm 10,9$ кл./мм²), обнаруживались в большем количестве гигантские клетки инородных тел – $34,1 \pm 1,19$ кл./мм² (график 1).

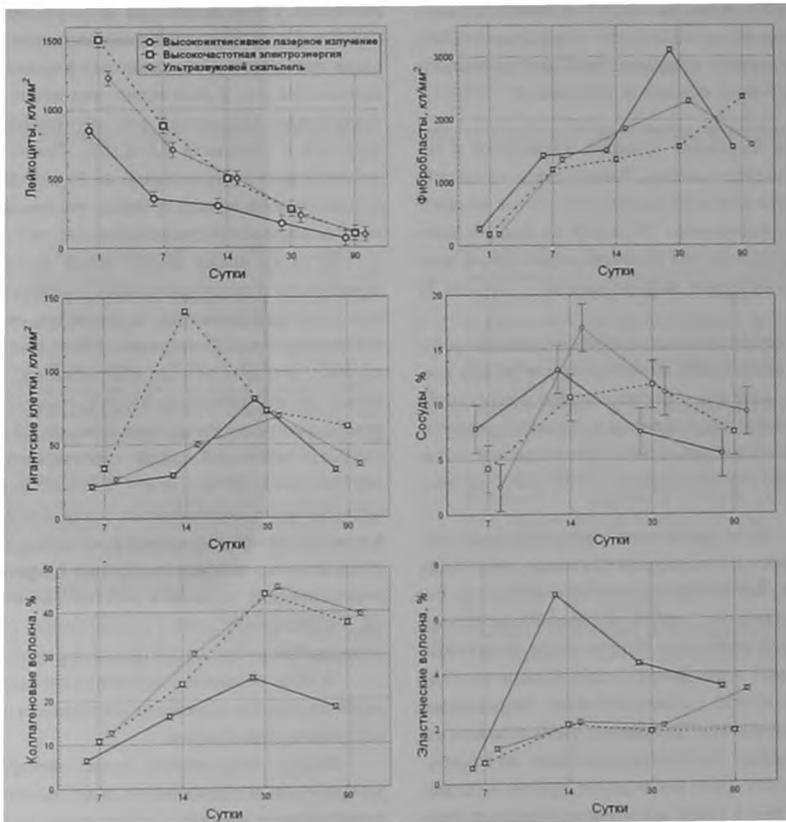


График 1. Динамика изменения клеточных элементов, относительной площади сосудов и волокон в зоне имплантации полипропиленовых эндопротезов. По оси абсцисс – длительность эксперимента (сутки), по оси ординат – количество клеток в 1 мм² для лейкоцитов, фибробластов и гигантских клеток инородных тел, относительная площадь (%) для сосудов, коллагеновых и эластических волокон.

Вновь образованные коллагеновые волокна располагались хаотично, были тонкими, слабо воспринимали кислый фуксин. Наиболее выраженному образованию коллагена и развитию эластических волокон способствовала ультразвуковая обработка их ложа по отношению к другим способам воздействия.

На данном сроке эксперимента прослеживались начальные этапы образования сосудистой сети. Сосуды большей частью имели дифференцированные стенки и заполненные кровью просветы, встречалось небольшое количество «сосудистых почек». Сосуды микроциркуляторного русла тканей, окружающие трансплантат, были расширены, в просвете их наблюдались эритроциты и стаз. После лазерного воздействия на зону имплантации относительная площадь новообразованных сосудов в формирующейся грануляционной ткани была больше, чем после ультразвукового скальпеля или электрокоагуляции и составляла $7,8 \pm 0,17\%$.

На 14-е сутки фрагмент инородного тела был окружен молодой грануляционной тканью, богатой клеточными элементами, с большим количеством новообразованных соединительно-тканых волокон и паретически расширенных сосудов мелкого калибра.

После использования высокоинтенсивного лазерного излучения количество лейкоцитов снизилось до $304 \pm 2,4$ кл./мм², а в группах с применением электрокоагуляции и ультразвукового скальпеля составляло $503 \pm 11,2$ кл./мм².

Отмечалась тенденция слияния макрофагов в гигантские многоядерные клетки. После лазерного воздействия на зону имплантации количество клеток инородных тел было наименьшим - $29,1 \pm 0,69$ кл./мм², больше всего клеток инородных тел образовывалось после применения высокочастотной электроэнергии - $140,5 \pm 1,20$ кл./мм².

Процессы фибриллогенеза в группах с лазерным излучением были выражены и соответствовали началу третьей фазе заживления ран - формированию и перестройке рубца. Количество фибробластов в динамике увеличилось. Меньше всего фибробластов образовывалось после использования электрокоагуляции - $1367 \pm 30,7$ кл./мм² (график 1).

На данном сроке эксперимента относительная площадь коллагеновых и эластических волокон увеличивалась в динамике, коллагеновые волокна становились более толстыми, извитыми, хорошо воспринимали кислый фуксин, в области ячеек они образовывали ритмичный рисунок, в котором чередовались относительно толстые и более тонкие пучки, соответствующие направлению моноволокон имплантата. Достоверно увеличивалась относительная площадь эластических волокон по отношению к предыдущему сроку наблюдения, при этом указанный показатель был в 3 раза выше после обработки лазером, чем после других способов воздействия. Новообразованные сосуды выявлялись на 14-е сутки эксперимента в большем количестве, имели полностью дифференцированные стенки и широкие, заполненные кровью просветы.

Через 30 суток вокруг всех эндопротезов определялась молодая соединительная ткань, богатая клеточными элементами и новообразованными соединительно-ткаными волокнами. В клеточном составе преобладали зрелые формы фибробластов. Определялись небольшие очажки крупноклеточной инфильтрации. Коллагеновые волокна были извитыми, компактно упакованными, сложенными в довольно толстые пучки, ориентированные преимущественно параллельно поверхности эндопротеза. Каждая ячейка протеза «обрастала» фибробластами и тонкими коллагеновыми волокнами.

После использования высокоинтенсивного лазерного излучения в участках дермы и подкожной клетчатки, прилегающих к зоне имплантации, отмечались выраженные склеротические изменения с отсутствием экссудативного компонента воспаления, количество лейкоцитов составило $176 \pm 4,0$ кл./мм². Относительная площадь коллагеновых волокон была значительно меньше по сравнению с другими методами обработки ложа, в соединительной ткани наблюдались истонченные и утолщенные участки, что связано с ремоделированием ткани, фрагментацией волокон и их частичной резорбцией. По всей площади имплантата отмечали четкое внедрение соединительной ткани широкими прослойками с замещением гораздо большего количества ячеек, чем при других методах диссекции. Относительная площадь эластических волокон была в 2 раза выше, чем после обработки ультразвуковым скальпелем или высокочастотной электроэнергией и составила $4,4 \pm 0,10\%$. После лазерного воздействия места имплантации на 30-е сутки наступала редукция сосудов во всех группах, что свидетельствовало о полном созревании грануляционной ткани.

В то же время вокруг нитей эндопротезов после применения электрокоагуляции и ультразвукового излучения регистрировались, в основном, еще выраженная лейкоцитарная инфильтрация: $278 \pm 8,4$ кл./мм² и $232 \pm 2,8$ кл./мм², многочисленные фибробласты, сосуды с явлениями продуктивного васкулита, гранулемы инородных тел. Большинство ячеек были лишь на $2/3$ замещены рыхлой соединительной тканью, характерно низкое содержание эластических волокон - $1,9 \pm 0,02\%$. Относительная площадь вновь образованных сосудов после воздействия высокочастотной электроэнергией к 30 суткам только достигала своего максимума, почти в 1,5 раза превышая соответствующие значения в группах с лазерным излучением, что указывало лишь о начале стадии формирования и перестройки рубца в этой группе (график 1).

К 90-м суткам эксперимента происходила стабилизация процессов созревания соединительной ткани и инкапсуляции эндопротеза.

Вокруг имплантатов после электрокоагуляции и ультразвуковой обработки их ложа выявлялась соединительнотканная капсула с отдельными эластическими волокнами и толстыми гиалинизированными коллагеновыми волокнами. Среди волокон капсулы встречались нередко кровеносные сосуды с явлениями васкулита, скопления лейкоцитов до $102, \pm 3,27$ кл./мм², фибробласты и гигантские клетки инородных тел, что свидетельствовало

о развитии гипертрофической рубцовой ткани.

В то же время вокруг эндопротезов после лазерного излучения их ложа определялась тонкая капсула, представленная нормотрофической рубцовой тканью, в которой чаще выявлялись эластические волокна – $3,5 \pm 0,01\%$ и лишь отдельные клеточные элементы и кровеносные сосуды.

На основании полученных данных выявлены определенные закономерности приживления сетчатых эндопротезов после обработки места имплантации высокоинтенсивным лазерным излучением, подтверждающие видимые преимущества использования последнего. Они заключались в следующем: имелась меньшая степень альтерации тканей, более низкое содержание нейтрофильных гранулоцитов во все сроки исследования, минимальный отек, т.е. слабовыраженная и короткая экссудативная фаза.

Ранняя пролиферация фибробластов, запуск процессов неоангиогенеза и коллагеногенеза обуславливали ускоренное вращение тяжей полноценной грануляционной ткани между волокнами эндопротеза (к 14-м суткам), с дальнейшим развитием нормотрофической рубцовой ткани (с 30-х суток).

К 90-м суткам в зоне имплантации формировался тонкий нежно-волокнистый соединительно-тканый рубец, брюшная стенка была мягкой, подвижная.

После обработки места имплантации высокочастотной электроэнергией и ультразвуковым скальпелем наблюдались следующие особенности приживления эндопротезов: преимущественно гнойный характер экссудата в ранние сроки наблюдения (до 14-х суток), хроническое гранулематозное воспаление с формированием гранул инородных тел (с 14-х суток), удлинение сроков формирования рубца (с 30-х суток), соответствующего на конечном сроке исследования гипертрофической рубцовой ткани. Морфологическими особенностями последней явились: отсутствие или небольшое содержание эластических волокон, увеличение содержания кислых гликозаминогликанов, значительное количество сосудов, продуктивный васкулит. На месте имплантации образовывалась однородная плотная рубцовая пластина, брюшная стенка в области эндопротеза была ригидная, мало растяжимая, не могла равномерно растягиваться и изгибаться.

Выводы

Таким образом, высокоинтенсивное лазерное излучение с длиной волны 980 нм способствует раннему созреванию зрелой грануляционной ткани в области имплантации, приводит к формированию более полноценного и эластичного рубца, что улучшает функциональные свойства передней брюшной стенки и способствует образованию прочной защиты в зоне герниопластики. ■

Литература:

1. Аксенов И.В. Ультразвуковой скальпель в абдоминальной хирургии. Хирургия. – 2007. – № 6. – С.57-59.
2. Востриков О.В., Зотов А.В., Никитенко Е.В. Морфология тканевых реакций вокруг имплантатов, используемых для комбинированной пластики брюшной стенки. Архив патологии. – 2004. – № 2. – С.25-28.
3. Головнева Е.С. Механизм универсальной активации неоангиогенеза после воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения на ишемизированные ткани. Вест. новых мед. технологий. – 2003. – Т. 10, № 1-2. – С.15-17.
4. Елисеенко В.И. Особенности репаративных процессов при использовании различных видов лазерного излучения в медицине. Современные достижения лазерной медицины и их применение в практическом здравоохранении: материалы науч.-практ. конф., Москва, 5-6 окт. 2006 – М., 2006. – С.169.
5. Монтгомери Д.К., Планирование эксперимента и анализ данных. Пер. с англ. Л.: Судостроение, 1980-384с.
6. Скобелкин О.К. Лазеры в хирургии. М.: Медицина, 1989. – 256 с.
7. Юшкин А.С., Майстренко А.Л., Андреев А.Л. Физические способы диссекции и коагуляции в хирургии. Хирургия. – 2003. – № 1. – С.48-53.
8. Ягудин, М.К. Прогнозирование и профилактика раневых осложнений после пластики вентральных грыж живота [Текст]; М.К. Ягудин. Хирургия. – 2003. – № 11 – С.54-60.
9. Chandiramani, V.A. Prolene hernia system in the tension-free repair of primary inguinal hernias; V.A. Chandiramani, A.N. Katara, S.M. Pandya et al. Indian J. Surg. – 2003. – Vol. 65, N 6. – P. 488-491.
10. Fagniez P.L., Tantawi B. The laser in digestive surgery. Ann. Gastroenterol. Hepatol. (Paris). – 1996. – Vol. 32, № 2. – P.73-76.
11. Lichtenstein I.L., Shulman A.G., Amid P.K. Twenty questions about hernioplasty. Am. Surg. – 1991. – Vol. 57, N 11. – P. 730-733.
12. Trabucco, E.E. Nuove protesi herniarie in polypropylene; E.E. Trabucco, G.P. Campanelli. Min. Chir. – 1998. – Vol. 53. – P. 337-341.