
И.С. СМОТРИН, Я.Р. МАЦЮК, Р.Е. ЛИС

**СТРУКТУРНЫЕ И ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
В СТЕНКЕ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ КОНТАКТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
ОБТУРАТОРА ИЗ ПЕНОПОЛИУРЕТАНА И ФТОРОПЛАСТА**

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Республика Беларусь

Проведены экспериментальные исследования по изучению влияния эластических обтураторов из пенополиуретана и фторопласта на структурные и цитохимические изменения в стенке тонкой кишки. Установлено, что при контактном воздействии на кишку в течение 14 суток данные эластические обтураторы не вызывают выраженных изменений в стенке кишки, а выявленные отклонения в активности ферментов в эпителиоцитах ворсинок мало выражены и не могут повлиять на их функциональное состояние.

Ключевые слова: тонкая кишка, обтуратор из пенополиуретана и фторопласта

The experimental studies have been done to determine the influence of the elastic obturators made of foamed polyurethane and teflon on the structural and cytochemical changes in the small intestine wall. It was determined that the present elastic obturators do not cause marked changes in the intestinal wall during the contact impact on the intestine for 24 hours within 14 days and the revealed deflections in enzyme activity of the epithelial cell villi are feebly marked and can not influence villi functional condition.

Keywords: small intestine, elastic obturators of foamed polyurethane and teflon

Лечение наружных кишечных свищей остаётся сложной проблемой практической хирургии. Несмотря на большие достижения в хирургии желудочно-кишечного тракта, летальность при консервативном и оперативном лечении больных с кишечными свищами остаётся высокой и колеблется от 10 до 50% [1, 2, 3]. Комплексное лечение наружных кишечных свищей в ряде случаев требует использования различного рода обтураторов. Они применяются как на этапе подготовки больного к операции, так и в качестве основного метода лечения при трубчатых кишечных свищах. Современные достижения органической химии позволили широко использовать в клинической медицине изделия из таких материалов, как пенополиуретан и фторопласт. Нами разработаны и изготовлены из выше указанных материалов эластические обтураторы. Проведёнными исследованиями было установлено, что имплантированный эластический обтуратор из композитного

материала на основе фторопласта не оказывает отрицательного воздействия на общую совокупность метаболических процессов в организме экспериментальных животных, анализируемых с помощью таких интегральных показателей, как свободные аминокислоты (их индивидуальные концентрации и структура пула) [4]. Наряду с этим, клиническое применение эластических обтураторов из пенополиуретана и фторопласта требует проведения исследований по изучению влияния данных изделий на морфофункциональное состояние структурных компонентов кишечной стенки. Проведённый анализ литературы показал, что подобных исследований не проводилось.

Цель работы: изучить влияние эластических обтураторов из пенополиуретана и фторопласта на структурные и цитохимические изменения в стенке тонкой кишки.

Материал и методы

Экспериментальные исследования проведены на кроликах обоего пола массой 1,5–1,7 кг. Животные были разделены на 4 группы: 1 группа – контрольная (6 животных) – животным эластические obturatory не имплантировались; 2 группа – плацебо (18 животных) – под калипсоловым наркозом косым разрезом в правой подвздошной области послойно вскрывалась брюшная полость, на расстоянии 5–7 см от илеоцекального угла тонкая кишка подшивалась к брюшине, а рана брюшной стенки ушивалась; 3 группа – пенополиуретан (ППУ, 18 животных) – под калипсоловым наркозом косым разрезом в правой подвздошной области послойно вскрывалась брюшная полость, на расстоянии 5–7 см от илеоцекального угла тонкая кишка подшивалась к брюшине, на кишку укладывался пенополиуретановый obturator, затем рана ушивалась; 4 группа – фторопласт (ПТФЭ, 18 животных) – под калипсоловым наркозом косым разрезом в правой подвздошной области послойно вскрывалась брюшная полость, на расстоянии 5–7 см от илеоцекального угла тонкая кишка подшивалась к брюшине, на кишку укладывался фторопластовый obturator, а рана над ним ушивалась.

Для изготовления основы эластических obturators из фторопласта нами был использован медицинский пенополиуретан (ППУ) плотностью 38–40 кг/м³, пористостью 98,5%. Поверхность заготовки из пенополиуретана в институте механики металлополимерных систем им. В.А. Белого НАН РБ модифицировалась методом лазерной абляции политетрафторэтиленовым (ПТФЭ, фторопласт) слоем толщиной 2 мм и пористостью около 85%.

Из эксперимента животные выводились под наркозом на 3, 7 и 14 сутки после вышеуказанных оперативных вмеша-

тельств. Участки тощей кишки размером до 1 см забирались для гистологического и цитохимического исследования. Препараты для гистологического исследования окрашивались гематоксилином и эозином [5]. Часть кусочков подвергали глубокому замораживанию в жидком азоте с последующей монтировкой на объектодержателе в криостате фирмы Leica CM-1850 при -15°C. Изготовленные одномоментно из замороженных кусочков контрольной и опытных групп животных криостатные срезы толщиной 10 мкм использовали для гистохимических исследований на предмет выявления в тканях тощей кишки (эпителиоцитах ворсинок) активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) – маркера цикла трикарбоновых кислот, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – маркера анаэробного гликолиза, НАДН – дегидрогеназы (НАДН·ДГ) – показатель активности митохондриальных процессов [6, 7, 8]. Все гистохимические реакции сопровождались бессубстратными контролями [9]. Количественную оценку активности ферментов в цитоплазме эпителиоцитов, находящихся в средней части кишечных ворсинок, проводили с использованием прибора микроабсорциометра – флюориметра в комплекте со сканирующим микроскопом МФТХ-2М при длине волны 580 нм и выражали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.).

Полученный цифровой материал обрабатывался статистически с использованием лицензированной программы Statistica 6.0 для Windows.

Иллюстративный материал гистоструктур тощей кишки получали с использованием микроскопа Axioscop 2 plus (Carl Zeiss, Германия) с цифровой видеокамерой Leica DFC 320.

Результаты исследований

В норме соединительнотканная стро-

ма слизистой тонкой кишки как контрольных, так и животных группы плацебо была инфильтрирована небольшим количеством лимфоцитов. Последние часто встречались между эпителиоцитами ворсинок и в меньшей степени крипт. В стро́ме ворсинок легко просматривались фибробласты, плазмоциты, единичные эозинофилы и нейтрофилы. Кровеносные капилляры, расположенные под эпителием в соединительнотканной стро́ме ворсинок, имели, как правило, просвет 5–7 мкм в диаметре. В центральной части стро́мы ворсинок находились в небольших количествах миоциты. Выстилающие снаружи в средней части ворсинок каемчатые энтероциты имели высокопризматическую форму длиной 25–30 мкм. Их цитоплазма отличалась выраженными оксифильными свойствами. На апикальном отделе цитоплазмы энтероцитов чётко просматривалась щётчатая каёмка, выделяющаяся повышенной оксифилией. Встречаемые между эпителиоцитами бокаловидные клетки были умеренно наполнены слабо базофильным мукоидным секретом. Эпителиоциты крипт отличались меньшей высотой (около 18–22 мкм), сниженной оксифилией цитоплазмы и более тонкой каёмкой.

Серозная оболочка, покрывающая снаружи мышечную, тонкая (10–25 мкм). В её соединительнотканной основе встречались в небольшом количестве лимфоциты и единичные плазмоциты. Встречаемые в ней кровеносные сосуды и капилляры имели нормальный диаметр.

На 3-и сутки вокруг имплантированного пенополиуретанового obturatora в рыхлой соединительной ткани оболочке стенки кишки развивалась лейкоцитарная инфильтрация с обилием в ней лимфоцитов. Последние в единичных количествах обнаруживались и в прослойках между волокнистыми элементами периферической части вышеназванного пенополиуретаново-

го obturatora (рис. 1, см. цв. вкладыш).

В подэпителиальной части соединительнотканной стро́мы ворсинок очагово расширялись и наполнялись кровью кровеносные капилляры. Их диаметр достигал 15–20 мкм. Это сопровождалось развитием умеренно выраженной перикапиллярной отёчности и лимфоцитарной инфильтрации. Усиливалась инфильтрация лимфоцитами и эпителия крипт и ворсинок, высота которого незначительно возросла (27–35 мкм). Чаще в стро́ме ворсинок и слизистой оболочке в целом стали обнаруживаться плазматические клетки. Бокаловидные клетки ворсинок и крипт увеличивались в размере (рис. 2, см. цв. вкладыш). Умеренное расширение кровеносных сосудов и переполнение их кровью, сопровождаемое слабой лимфоцитарной инфильтрацией, имело место и в соединительнотканной основе подслизистой оболочке и соединительнотканной основе серозной оболочки. Аналогичная картина наблюдалась и со стороны серозной оболочки тонкой кишки, которая контактировала с obturatorом из фторопласта. Всё это сопровождалось незначительной отёчностью и умеренной лимфоцитарной инфильтрацией (рис. 3, 4, см. цв. вкладыш).

К семи суткам в серозной оболочке, контактирующей с obturatorом из фторопласта, кровеносные сосуды её соединительнотканной основы оставались расширенными. Это также сопровождалось отёчностью и незначительно выраженной лимфоцитарной инфильтрацией (рис. 5, см. цв. вкладыш). Возросла при этом и фибробластическая реакция с увеличением количества фибробластов не только в соединительнотканной основе серозной оболочки, находящейся в контакте с фторопластом, но и в участках кишки, прилежащих к пенополиуретановому obturatorу (рис. 6, см. цв. вкладыш).

Тщательное изучение гистологических

препаратов показало, что при этом имела место активация адвентициальных клеток кровеносных сосудов микроциркуляторного русла, которые по структурным и тинкториальным свойствам весьма схожи с таковыми фибробластов рыхлой неоформленной соединительной ткани, расположенной вблизи сосудов (рис. 7, см. цв. вкладыш).

Становится очевидным, что усиление фибробластической реакции, приводящей к увеличению численной плотности фибробластов в соединительнотканной основе серозной оболочки, находящейся в контакте с фторопластом, происходит не только за счёт малодифференцированных клеток фибробластического ряда рыхлой неоформленной соединительной ткани, но и за счёт активации адвентициальных клеток наружной оболочки кровеносных сосудов.

К этому сроку (7 суток) вокруг пенополиуретанового obturator за счёт фибробластической реакции уже наблюдалось формирование фиброзной соединительнотканной капсулы. Проникшая в некоторых участках в ячейки пенополиуретана кровь превращалась в клеточный детрит (рис. 8, см. цв. вкладыш), что способствовало организации в этих участках соединительнотканых прослоек (рис. 9, см. цв. вкладыш).

Изменения в самой стенке тощей кишки в ответ на контактное воздействие пенополиуретана и фторопласта были незначительны. В соединительнотканной строме слизистой имело место умеренное расширение гемокапилляров, сопровождающееся незначительной лимфоцитарной инфильтрацией. Чаще встречались лимфоциты и среди эпителиоцитов крипт и ворсинок. Высота эпителиоцитов ворсинок проявляла тенденцию к увеличению (27–32 мкм), однако их структурные и оксифильные свойства существенно не менялись. Всегда в их апикальном отделе от-

чётливо выявлялась каёмка. Находящиеся в обилии между каёмчатыми эпителиоцитами ворсинок и крипт бокаловидные клетки переполнялись мукоидным секретом (рис. 10, см. цв. вкладыш).

На 14-е сутки вокруг пенополиуретанового obturator имело место развитие мощной соединительной ткани, приводящее к формированию не только фиброзной оболочки, но и выраженных соединительнотканых прослоек, внедряющихся внутрь имплантата между его ячеисто-волокнистыми элементами (рис. 11, 12, см. цв. вкладыш). В этих соединительнотканых образованиях отмечалось обилие умеренно расширенных гемокапилляров.

В самой стенке тощей кишки продолжала наблюдаться умеренная лимфоцитарная инфильтрация соединительной ткани слизистой оболочки, особенно в области ворсинок. Большое количество лимфоцитов встречалось и среди эпителиоцитов ворсинок. Среди клеточных элементов рыхлой соединительной ткани слизистой, имелось много плазмочитов, особенно в области ворсинок. Содержание мукоидного секрета в бокаловидных клетках крипт и ворсинок уменьшалось.

Незначительными были и цитохимические изменения (таблица). Так, у животных при имплантации пенополиуретанового obturator на 3 и 7 дни опыта в сравнении с животными группы плацебо наблюдалось снижение в энтероцитах ворсинок активности СДГ. Соответственно срокам последняя составляла 13% и 17%, и только на 14 сутки наблюдалось возвращение её к норме. Несколько сниженной на 3 сутки опыта была и активность ЛДГ. На 7 и 14 сутки её активность не отличалась от таковой в группе плацебо. Активность в эпителиоцитах НАДН·ДГ была сниженной, в сравнении с контрольными животными, соответственно срокам исследования на 12,3%, 5,3% и 12,7%. Анало-

Таблица

**Активность ферментов цитоплазмы энтероцитов ворсинок тонкой кишки
при имплантации эластических обтураторов по данным цитофотометрии
(ед. опт. пл. × 1000)**

Группы животных	Сроки исследования	Уровень активности СДГ	% к контрольным	% к плацебо	Уровень активности ЛДГ	% к контрольным	% к плацебо	Уровень активности НАДН·ДГ	% к контрольным	% к плацебо
ПШУ	3 сут.	174,00±19,39	87,00	75,7	976,00±29,09	91,2	90,4	820,00 ± 52,91	85,4	87,7
	7 сут.	165,00±17,56*	82,50	61,1	1095,00±36,63	102,3	99,3	900,00 ± 50,17	93,8	94,7
	14 сут.	194,29±15,25	97,1	105,2	1041,43±24,83	97,3	98,3	855,71 ± 62,82	89,1	87,3
ПТФЭ	3 сут.	218,33±7,03	109,2	94,9	1096,67±24,04	102,5	101,5	893,33 ± 29,40	93,1	95,5
	7 сут.	158,00±23,54*	79,0	58,5	1026,00±20,88	95,9	93,0	972,00 ± 45,87	101,3	102,3
	14 сут.	231,43±37,57	115,7	125,1	1060,00±18,13	99,6	100,0	895,71 ± 27,50	93,3	91,4
Плацебо	3 сут.	230,00±68,68	115,0	100,0	1080,00±68,43	100,9	100,0	935,00 ± 68,86	97,4	100,0
	7 сут.	270,00±20,82	135,0	100,0	1103,00±35,28	103,8	100,0	950,00 ± 65,06	99,0	100,0
	14 сут.	185,00±26,30	92,5	100,0	1060,00±21,21	99,1	100,0	980,00 ± 39,37	102,1	100,0
Контроль		200,00±20,82	100,0	—	1070,00±40,41	100,0	—	960,00 ± 78,10	100,0	—

* – статистически достоверные различия с животными группы плацебо при $p \leq 0,05$

гичная закономерность прослеживалась у животных группы плацебо по сравнению с контролем.

При имплантации обтуратора из фторопласта изменения активности ферментов в энтероцитах в сравнении с животными группы плацебо также были не существенными. Уменьшение активности СДГ на 3 и 7 сутки составило 24,3% и 38,9%. Активность же ЛДГ была меньшей лишь на 7 день, а на 3 и 14 сутки практически не отличалась от контрольных показателей. Для НАДН·ДГ снижение активности на 3 и 14 дни после применения обтуратора составило 4,5% и 8,6%. Эта закономерность сохранялась и в сравнении с животными группы плацебо.

Выводы

1. Эластические обтураторы из пенополиуретана и фторопласта при контакте

с тканями тонкой кишкой в течение 14 суток, по данным гистохимических исследований, не вызывают в них выраженных изменений.

2. На 7 сутки исследования отмечается прорастание соединительной ткани в ячейки пенополиуретана. На 14-е сутки вокруг пенополиуретанового обтуратора имеет место развитие мощной соединительной ткани, приводящее к формированию не только фиброзной оболочки, но и соединительнотканых прослоек, внедряющихся внутрь имплантата между его ячеисто-волокнистыми элементами. Прорастание соединительной ткани в обтуратор из фторопласта не наблюдается.

3. Установленные отклонения активности ферментов в эпителиоцитах ворсинок при контакте обтуратора со стенкой кишки не существенны и не могут повлиять на их функционирование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Этапное лечение больных с наружными тонкокишечными свищами / С. А. Воробьев [и др.] // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 2008. – № 6. – С. 114-118.
2. A novel approach to the problem of intestinal fistulization arising in patients managed with open peritoneal cavities / S. Girard [et al.] // Am. J. Surg. – 2002. – Vol. 184, N 2. – P. 166-167.
3. Improving outcome in patient of high output small bowel fistula / N. Kaur [et al.] // Trop. Gastroenterol. – 2004. – Vol. 25, N 2. – P. 92-95.
4. Влияние эластических обтураторов из композитного материала на содержание свободных аминокислот плазмы крови и печени при имплантации их в организм животного / В. М. Шейбак [и др.] // Журнал Гродн. гос. мед. ун-та. – 2009. – № 2. – С. 151-155.
5. Волкова, О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М.: Наука, 1982. – 304 с.
6. Ковальский, Г. Б. Количественная гистохимия дегидрогеназ // Введение в количественную гистохимию ферментов / Г. Б. Ковальский, Т. В. Журавлева, Р. А. Прочуханова; под ред. Т. В. Журавлевой, Р. А. Прочухановой. – М.: Медицина, 1978. – 58 с.
7. Фогель, Ф. Генетика человека / Ф. Фогель, А. Мотульский. – М.: Мир, 1990. – Т. 2. – 378 с.
8. Лойда, З. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы / З. Лойда, Р. Госсрау, Т. Шиблер. – М.: Мир, 1982. – 272 с.
9. Пирс, Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: ИЛ, 1962. – 961 с.

Адрес для корреспонденции

231371, Республика Беларусь,
г. Гродно, микрорайон Барановичи-1,
пер. Песочный, д. 9;
тел. моб.: +375 29 781-00-78,
e-mail: s.smotrin@mail.ru,
Смотрин И.С.

Поступила 15.07.2009 г.