

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СРАВНЕНИЯ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОХИРУРГИЧЕСКОГО И РАДИОВОЛНОВОГО МЕТОДОВ НА ТКАНИ МАТОЧНОЙ ТРУБЫ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ СПАЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ

Харьковская медицинская академия последипломного образования

(г. Харьков)

Данное исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы кафедры акушерства и гинекологии № 2 ХМАПО «Оптимізація методик діагностики, ендоскопічної допомоги та реабілітації пацієнток з захворюваннями додатків матки», № гос. регистрации 0112U000974.

Вступление. Актуальной проблемой в Украине является проблема бесплодия в браке. В структуре женского бесплодия, по данным различных авторов, основная роль принадлежит трубно-перитонеальному бесплодию и колеблется в границах от 20 до 30 % пациенток [по данным МОЗ Украины № 582 от 15.12.2003 г. «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги»] и по данным мировых исследований, трубно-перитонеальное бесплодие составляет 30-65 % [5], в структуре патологии доминирует трубный фактор (35-40 % случаев), а перитонеальная форма бесплодия наблюдается в 9,2-34 % случаев. При первичном бесплодии поражение маточных труб составляет 29-70 %, при вторичном – 42-83 % [3, 6].

Таким образом, трубно-перитонеальную патологию диагностируют, как минимум, у половины пациенток, которые обращаются за медицинской помощью по поводу бесплодия.

У 27 % больных с трубно-перитонеальной формой бесплодия при лапароскопии выявляется спаечный процесс II-III степени распространенности. У 43 % женщин, перенесших воспалительные заболевания придатков матки отмечается полная непроходимость маточных труб, а в 49 % случаев – частичная [2]. Сращения, которые возникают уже после первичного воспалительного поражения маточных труб, нарушают механизмы захвата и транспорта яйцеклетки. Параллельно отмечается повышение активности фибробластов на серозной оболочке трубы, что ведет к образованию соединительнотканых сращений – спаек.

В последнее время при лечении трубно-перитонеального бесплодия методом выбора является лапароскопическое лечение, которое позволяет достичь восстановления проходимости маточных труб в 70-90 % случаев [4]. Повышению эффективности

лечения пациенток с ТПБ способствует использование радиоволновой энергии, как более современного, в сравнении с электрохирургическим, метода физического воздействия на ткани.

Таким образом, **целью** данной **работы** было провести сравнительную оценку морфологических аспектов применения электрохирургического и радиоволнового методов, определить оптимальный тип воздействия на ткани с учетом параметров длины волны и силы тока.

Объект и методы исследования. Объектом для морфологического исследования послужили фрагменты маточных труб с признаками рубцевания, взятых от самок белых крыс линии Вистар. Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страссбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», утвержденных Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Животные в количестве 20 особей были поделены на 5 групп. 1-я – группа контроля; 2-я – группа: применения радиоволнового метода при выходной мощности 15 Вт; 3-я – радиоволновой метод 25 Вт; 4-я – радиоволновой метод 45 Вт; 5-я – электрохирургический метод. Для определения степени термического поражения и выраженности коагуляции забирались фрагменты маточной трубы, отстоящие от места воздействия на 0,1 см. Интенсивность воспаления и характер регенераторного процесса определяли на участках, где наносилось воздействие и на расстоянии 0,1 см.

Для получения результатов были применены следующие **методы**: гистологический, иммуногистохимический, морфометрический.

Материал подвергали макроскопическому и микроскопическому (8-10 кусочков) изучению. Парафиновые срезы толщиной 10 -15 мкм были окрашены гематоксилин эозином, пикрофуксином по Ван-Гизон.

Иммуногистохимическим методом выявляли: в эпителиальных структурах маточной трубы

экспрессию низкомолекулярных цитокератинов (Cytokeratin PAN, AE1/AE3); для изучения «зрелости» соединительнотканного матрикса и качества рубцовой ткани – экспрессию коллагена IV типа (Collagen IV, CIV22); для определения особенностей васкуло- и ангиогенеза тканей маточной трубы и тканей новообразованных спаек – экспрессию маркера эндотелиальных клеток (CD 31). В структурах мышечного слоя стенки трубы выявляли количество и особенности распределения гладкомышечного актина (Smooth Muscle Actin, 1A4). Использовались мышинные моноклональные антитела (МКАТ) фирмы DAKO (Дания), Ready-to-Use. Демаскирующая термическая обработка выполнялась путем кипячения срезов в цитратном буфере (pH 6,0). Для визуализации первичных антител использовалась система детекции LSAB-2 System, HRP (стрептавидин-биотин-пероксидазный комплекс), фирма DAKO (Дания). В качестве хромогена использовался DAB (диаминобензидин). Подсчет количества клеток, которые демонстрировали интенсивное связывание пероксидазы в 1 ммl осуществлялся в 10 полях зрения, для оценки степени экспрессии антител использовали полуколичественную шкалу: + – слабая, ++ – умеренная, +++ – выраженная реакция.

Подсчет клеточных элементов производился на полутонких срезах толщиной 3-5 мкм, окрашенных гематоксилином/эозином и по Ван-Гизон. Классический морфометрический анализ был проведен в соответствии со сложившимися принципами количественных морфологических исследований [1].

Результаты исследований и их обсуждение.

При гистологическом исследовании маточных труб животных контрольной группы были выявлены следующие закономерности. Снаружи маточная труба покрыта тонкой серозной оболочкой, состоящей из одного слоя мезотелиоидных клеток, лежащих на тонкой соединительнотканной базальной мембране. Под серозной оболочкой имеется наружная часть мышечного слоя маточной трубы, волокна которого расположены радиально по отношению к поперечному срезу трубы. Затем следует внутренняя часть мышечного слоя, с продольным расположением мышечных волокон. Далее внутри следует подслизистый слой, который у здоровых животных на большем протяжении практически неразличим. На границе серозного и мышечного слоев, а также мышечного и подслизистого слоя в основном располагаются кровеносные сосуды. По большей части в них хорошо различимы мышечная стенка и интима, выстланная одним слоем уплощенных эндотелиальных клеток. Внутренним слоем стенки маточной трубы является слизистая оболочка. Строение слизистой оболочки имеет сходство со строением эндометрия – хорошо различима цитогенная строма в которой расположены железы эндометриоидного типа, однако их количество невелико. Покровный эпителий слизистой оболочки имеет характер цилиндрического, представлен преимущественно реснитчатыми клетками.

Как покровный эпителий, так и эпителий желез дает устойчивую позитивную реакцию с цитокератином PAN при использовании иммуногистохимических

методов исследования. Эндотелий кровеносных сосудов демонстрирует четкое окрашивание при использовании иммуногистохимического маркера CD31. Обе части мышечного слоя стенки маточной трубы дают позитивную реакцию к SMA (гладкомышечный актин). Коллаген IV выявляется местами в виде небольшого размера локусов в стенках кровеносных сосудов и в толще мышечного слоя (табл.).

В группе исследования где применялся радиоволновой метод воздействия с выходной мощностью 15 Вт в местах воздействия отмечались явления утолщения серозной оболочки с разрастанием в этой зоне соединительной ткани, с наличием в ее толще воспалительной инфильтрации, состоящей преимущественно из мононуклеаров.

При иммуногистохимическом исследовании был выявлен достаточно высокий уровень экспрессии цитокератина PAN, который обнаруживался как в покровном эпителии, так и в эпителии желез. CD 31 выявлялся в эндотелии сосудов подслизистого слоя и серозной оболочки, где был распространен равномерно, как это отмечалось в группе с интактными животными. Помимо этого CD 31 давал позитивную реакцию в виде небольших локусов в местах утолщенной серозной оболочки.

Коллаген IV, как и в контрольной группе, в небольшом количестве (табл.) выявлялся в толще мышечного слоя, и, кроме того, достаточно крупные очаги его обнаруживались в месте утолщенной серозной оболочки, в том числе и в стенках кровеносных сосудов указанных участков.

В группе с использованием радиоволнового метода с выходной мощностью 25 Вт изменения деструктивного и репаративного характера были более выражены, чем в предыдущей группе исследования. Серозная оболочка была значительно утолщена, представлена преимущественно молодой грануляционной тканью с многочисленными тонкостенными кровеносными сосудами, с обильной лимфоплазматической воспалительной инфильтрацией. Также в состав воспалительного инфильтрата входили немногочисленные сегментоядерные лейкоциты. Встречались участки более зрелой грануляционной ткани, с меньшим количеством сосудов, при этом сосуды ее имели более крупный калибр и толстые стенки.

Таблица

Степень выраженности иммуногистохимических реакций при различных хирургических методах воздействия

Маркер	Контроль	Метод воздействия			
		Радиоволновой			Электрохирургический
		15 Вт	25 Вт	40 Вт	
SMA	+++	+++	++	+	+
CD 31	++	++	++	+	+
Цитокератин	+++	+++	++	+	+/-
Коллаген IV	+	+	+++	+++	+++

Сосуды зрелой грануляционной ткани обладали более плотной эндотелиальной выстилкой, что подтверждалось иммуногистохимической реакцией с антителами к CD 31. Пространство между сосудами занято соединительной тканью, что подтверждается наличием коллагена IV, выявленным иммуногистохимически. Плотность воспалительной инфильтрации в зрелой грануляционной ткани ниже, чем в молодой. В толще мышечного слоя встречались очаги коагуляционного некроза, причем это касалось как наружной, так и внутренней части мышечного

Иммуногистохимическое исследование продемонстрировало в этих участках очаги, где SMA не выявлялся, что подтверждает наличие дезорганизации мышечного слоя. Поля некроза были окружены либо участками грануляционной ткани с четкой демаркационной линией, состоящей из сегментоядерных лейкоцитов, либо фиброзной тканью. В последнем случае воспалительная реакция была минимальной. В слизистой оболочке имелись единичные мелкие очаги коагуляционного некроза, однако на большем протяжении она была сохранена, что подтверждается данными иммуногистохимического исследования по выявлению цитокератина PAN (табл.).

В группе исследований, где был применен радиоволновой метод воздействия с выходной мощностью 40 Вт изменения носили следующий характер. Серозная оболочка маточной трубы была значительно равномерно утолщена, состояла из молодой, хорошо васкуляризованной грануляционной ткани. Последняя густо инфильтрирована лимфоцитами, плазмócитами с примесью сегментоядерных лейкоцитов. Глубже в толще стенки маточной трубы наблюдались следующие изменения архитектоники. Толщина стенки трубы значительно превышала таковую в контрольной группе. Увеличение толщины объяснялось следующими факторами: утолщением серозной оболочки, наличием выраженного отека межмышечного слоя, «разобщающим» наружную и внутреннюю части его, а также отеком подслизистого слоя.

Кроме того, в серозной оболочке имел место полноценный неоангиогенез, что подтверждается иммуногистохимическими реакциями с применением CD 31. Гладкомышечная ткань стенки трубы имела выраженные признаки дистрофии, что демонстрировалось снижением интенсивности окрашивания при использовании иммуногистохимического маркера SMA.

В межмышечном пространстве иммуногистохимически обнаруживается достаточно большое количество коллагена IV, который располагается в виде упорядоченных ламинарных структур, что может свидетельствовать о формировании рубцовой ткани в этой зоне. Также коллаген IV обнаруживается в стенках сосудов, как существующих ранее, так и новообразованных и очагово встречается в подслизистом слое и, в меньшей степени, в толще слизистой оболочки. Слизистая по большей части сохраняет покровных эпителий, однако железы не обнаруживаются, что подтверждается реакцией с цитокератином. В толще слизистой выявляются достаточно обширные участки коагуляционного

некроза, которые гистотопографически совпадают с выявленными локусами коллагена IV (табл.).

При использовании электрохирургического метода воздействия были отмечены следующие закономерности. В зоне, отстоящей от зоны воздействия на 0,1 см наблюдалась карбонизация участков серозной оболочки. Под указанными участками отмечался некроз всей толщи мягких тканей стенки трубы. Отступая 0,2 – 0,3 см от зоны воздействия следы прямого термического повреждения (карбонизация) не обнаруживаются, однако изменения в стенке трубы по-прежнему заслуживают внимания. Со стороны серозной оболочки наблюдается наличие гомогенной эозинофильной массы – фибрина, в толще которого обнаруживаются сегментоядерные лейкоциты, некоторое количество макрофагов. Четко определить гистотопографию серозной оболочки не представляется возможным ввиду выраженного нарушения архитектоники стенки. В толще мышечного слоя стенки маточной трубы также отмечается очагово-диффузная воспалительная инфильтрация с доминированием сегментоядерных лейкоцитов и макрофагов. Также отмечается дискомплексация мышечных волокон, выраженный отек интрамизия с наличием в нем лейкоцитарных микроагрегатов. Границы подслизистого слоя и слизистой оболочки не определяются ввиду наличия множественных очагов коагуляционного некроза, выраженного отека тканей, наличия значительных очагов рубцовой ткани. В слизистой оболочке не удается определить ни наличия эпителиальной поверхностной выстилки, ни эпителия желез, что подтверждается данными иммуногистохимического исследования с использованием маркера к цитокератину – во всех случаях имеется отрицательный результат реакции, что говорит о потере функционально активного эпителия в исследуемой зоне.

Обращает на себя внимание состояние кровеносных сосудов. Часть их имеет нечеткие контуры просвета. Встречаются сосуды как с истонченной, так и с резко утолщенной стенкой, в последней иммуногистохимически определяется наличие коллагена IV. Кроме того, в части кровеносных сосудов имеются признаки эндовакулитов – воспалительная инфильтрация, состоящая из сегментоядерных лейкоцитов. Иммуногистохимическое определение CD 31 демонстрирует снижение интенсивности окрашивания в сравнении с данными по предыдущим группам. Также с помощью иммуногистохимии (выявление SMA) наглядно демонстрируются изменения, затронувшие мышечный слой стенки маточной трубы. Внешняя часть мышечного слоя значительно истончена, межмышечное пространство расширено за счет отека, хорошо васкуляризовано, некоторые сосуды этой зоны имеют собственную мышечную стенку. Внутренняя часть мышечного слоя демонстрирует дискомплексацию мышечных волокон, что также объясняется выраженным отеком тканей.

Коллаген IV выявляется в большом количестве в межмышечном пространстве, в стенках кровеносных сосудов а также в толще слизистой оболочки. Его

появление отражает ход репаративных процессов в очагах коагуляционного некроза.

Таким образом, на основании вышеизложенного можно сделать следующие **выводы**:

1. Увеличение выходной мощности радиоволнового метода воздействия на ткань маточной трубы ведет к более значительному повреждению тканей, отстоящих от зоны воздействия на 0,1 см. С увеличением мощности увеличивается площадь и количество локусов коагуляционного некроза тканей. Это дает стимул к запуску процессов репарации, соответственно прогрессирует неоангиогенез и, как следствие, нарастает отек тканей. В конечном итоге, в группе исследования, где был применен радиоволновой метод с максимальной мощностью, количество и плотность рубцовой ткани также максимально.

2. Использование электрохирургического метода воздействия ведет к более выраженному повреждающему действию на ткани, в сравнении с радиоволновым методом. Об этом свидетельствует более широкая зона поражения, наличие участков карбонизации тканей, наличие очагов флегмонозного воспаления стенки маточной трубы. Кроме того, можно отметить прямое поражающее действие на эндотелий кровеносных сосудов, что способно привести к гемодинамическим нарушениям

и, как следствие, к усугублению деструктивных процессов. Также при использовании данного метода воздействия, в сравнении с радиоволновым, отмечается замедление репаративных процессов. Данное умозаключение подтверждается замедленным созреванием соединительной ткани в стенке маточной трубы и в спайках. Отчасти это можно объяснить нарушенным неоангиогенезом, и, как следствие, снижением резорбции очагов деструкции и воспаления, нарушением образования и созревания грануляционной ткани.

3. Использование радиоволнового метода с минимальной выходной мощностью является более перспективной хирургической тактикой, в сравнении с применением электрохирургического метода.

Перспективы дальнейших исследований.

Имея представление о сущности патологических процессов, происходящих в ткани маточной трубы при различных методах хирургического воздействия, можно выработать концепцию терапевтических мероприятий, направленных на коррекцию повреждающего действия на ткани, нарушений кровообращения, снижение явлений отека тканей, предупреждение развития деструктивных процессов и послеоперационных осложнений.

Литература

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Козуб Н. И. Восстановление репродуктивной функции у больных с трубно – перитонеальным бесплодием / Н. И. Козуб, Л. И. Недоступ, Н. С. Кучерина [и др.]. – Харьков. 2003. – 28 с.
3. Кулаков В. И. Использование лапароскопии при лечении трубно-перитонеального бесплодия. Медико-социальные аспекты репродуктивного здоровья женщины / В. И. Кулаков, Н. И. Волков, Ф. А. Маргиани. – М.: Academia, 2000. – С. 121-124.
4. Нікітін О. Д. Діагностика безпліддя в сучасних умовах (трубно – перитонеальний фактор) / О. Д. Нікітін, Л. А. Жабіцька // Здоров'я жінки. – 2011. – №3 (59). – С. 234-237.
5. Ускова В. А. Комплексное лечение пациенток с трубно-перитонеальным фактором / В. А. Ускова, Б. Г. Ермошенко, С. А. Галустян // Проблемы репродукции. – 2009. – №2. – С. 37-43.
6. Ускова М. А. Рациональные подходы к лечению трубно – перитонеального бесплодия (обзор литературы) / М. А. Ускова, Л. Н. Кузьмичев // Проблемы репродукции. – 2009. – №4. – С. 24 – 28.

УДК 618. 12-089. 168-06-007. 274-091. 8-092. 9

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СРАВНЕНИЯ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОХИРУРГИЧЕСКОГО И РАДИОВОЛНОВОГО МЕТОДОВ НА ТКАНИ МАТОЧНОЙ ТРУБЫ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ СПАЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ

Яковцова И. И., Козуб Н. И., Олейник А. Е., Рыженко Ю. В., Данилюк С. В.

Резюме. Работа посвящена сравнительному изучению морфологических особенностей спайкообразования при использовании электрохирургического и радиоволнового методов воздействия на ткани маточной трубы крысы. Имея представление о сущности патологических процессов, происходящих в ткани маточной трубы при различных методах хирургического воздействия, можно выработать концепцию терапевтических мероприятий, направленных на коррекцию повреждающего действия на ткани, нарушений кровообращения, снижение явлений отека тканей, предупреждение развития деструктивных процессов и послеоперационных осложнений.

Ключевые слова: морфология спайкообразования, электрохирургический метод, радиоволновой метод.

УДК 618. 12-089. 168-06-007. 274-091. 8-092. 9

МОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПОРІВНЯННЯ ШКІДЛИВОЇ ДІЇ ЕЛЕКТРОХІРУРГІЧНОГО І РАДІОХВИЛЬОВОГО МЕТОДІВ НА ТКАНИНИ МАТКОВОЇ ТРУБИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ СПАЙКОВОЇ ХВОРОБИ

Яковцова І. І., Козуб Н. І., Олійник А. Є., Риженко Ю. В., Данилюк С. В.

Резюме. Робота присвячена порівняльному вивченню морфологічних особливостей спайкоутворення при використанні електрохірургічного і радіохвильового методів впливу на тканини маткової труби щура. Маючи

уявлення про сутність патологічних процесів, що відбуваються в тканини маткової труби при різних методах хірургічного впливу, можна виробити концепцію терапевтичних заходів, спрямованих на корекцію шкідливої дії на тканини, порушень кровообігу, зниження явищ набряку тканин, попередження розвитку деструктивних процесів і післяопераційних ускладнень.

Ключові слова: морфологія спайкоутворення, електрохірургічний метод, радіохвильової метод.

UDC 618. 12-089. 168-06-007. 274-091. 8-092. 9

Comparative Study of the Morphological Features of Adhesions after Using Radio Frequency and Electrosurgical Methods of Influence on the Fallopian Tube Tissue of the Rat in Experiment

Yakovtsova I. I., Kozub M. I., Oliynyk A. E., Rizhenko Yu. V., Danyluk S. V.

Abstract. Actual problem in Ukraine is the problem of infertility in marriage. In the structure of female infertility, according to various authors, the main role belongs to the tubal-peritoneal infertility (TPI) and varies within the limits from 20 to 30 % of patients. In recent years in the treatment of tubal-peritoneal infertility "treatment of choice" is laparoscopic surgery. It allows for the restoration of tubal patency in 70-90 % of cases. Improve the effectiveness of treatment of patients with TPI promotes the use of radio wave energy. This one is more advanced in comparison to an electrosurgical method of physical impact on the tissue.

The aim of our study was to conduct a comparative assessment of the morphological aspects of the use of electro surgery and radiofrequency techniques to determine the optimal type of impact on tissues within the parameters of output power. Object for morphological study were fragments with signs of tubal scarring, taken from female Wistar albino rats. 20 animals were divided into 5 groups. 1st – control group; 2nd – group: application of the method of radio-wave 15 W; 3rd – 25W radio-wave method; 4th – 45W radio-wave method; 5th – electrosurgical method. To determine the extent of thermal damage and the severity of coagulation were collected fragments of the fallopian tube, separated from the place of exposure to 0.1 cm. The intensity of the inflammation and the character of the regenerative process defined in areas where the exposure was applied at a distance of 0.1 cm.

To obtain the results following methods were used: a histological, immunohistochemical, morphometric.

On the basis of these observations the following conclusions:

With increasing output power increases the area and the number of loci coagulation necrosis of tissue. This gives an incentive to start the process of repair, angiogenesis and progression, and respectively as a result, increases tissue edema. Ultimately, in the study group which has been applied to the radio wave technique the maximum output power, the number and density of scar tissue was maximal.

Using electrosurgical technique exposure leads to more pronounced damaging effect on tissues in comparison with a radio wave method. This is evidenced by a broad zone of injury, the presence of areas of tissue carbonization, the presence of foci of abscess inflammation of the fallopian tube wall. Furthermore, it can be noted direct damaging effect on the endothelium of blood vessels. This leads to hemodynamic disorders and, as a consequence, to the aggravation of destructive processes. Also, when using this method of exposure, in comparison with a radio wave, marked slowing of reparative processes was observed.

Using radio wave method with the lowest output power is less traumatic, as compared with the use of electrosurgical technique.

Having an idea about the nature of the pathological processes that occur in the tissue of the fallopian tube at various methods of surgical exposure, we can develop the concept of therapeutic interventions aimed at correcting the damaging effect on tissues, and also prevent poor circulation, reduce edema, prevent the development of destructive processes and postoperative complications.

Keywords: morphology adhesions, electrosurgical method radiowave method.

Рецензент – проф. Гасюк А. П.

Стаття надійшла 16. 09. 2014 р.