

І.І.Малков

ТОВ «ЕКОДНІПРО»,
м. Дніпро

Ключові слова: експериментальний вентральний дефект, алопластика, реакція і регенерація клітин, мікроциркуляція.

Надійшла: 26.01.2017

Прийнята: 12.03.2017

УДК 616-007.43:616-089.844-003.9-008.9

УЛЬТРАСТРУКТУРНА Й ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТКАНИН ПЕРЕДНЬОЇ ЧЕРЕВНОЇ СТІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПЛАСТИЦІ ВЕНТРАЛЬНИХ ГРИЖ

Дослідження проведено у рамках науково-дослідної роботи «Аналіз нормального й аномального гістогенезу тканинних компонентів серцево-судинної системи людини та експериментальних тварин» (номер державної реєстрації 0111U007837).

Реферат. Метою роботи було визначення клітинних і ультраструктурних змін у складі передньої черевної стінки при експериментальній алопластиці вентральних дефектів. Морфологічне дослідження проводили протягом 1 року за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії та імуногістохімії судинних маркерів CD34 і VEGF. Встановлено, що за умов значної напруги тканин після пластики великого вентрального дефекту відбувається збереження деструктивних ультраструктурних змін незалежно від наявності або відсутності протезу. Відсутність значного натягу тканин створює умови для повноцінної інтеграції протезу до м'язово-апоневротичних структур. Запобігання біомеханічній напрузі м'язово-апоневротичного шару призводить до нормалізації розподілу та рівнів експресії маркерів VEGF і CD34.

Morphologia. – 2017. – Т. 11, № 1. – С. 37-44.

© І.І.Малков, 2017

✉ malkov.gc@gmail.com

Malkov I.I. Ultrastructural and immunohistochemical characteristics of the anterior abdominal wall tissue in experimental plastics of ventral hernias.

ABSTRACT. Background. The active retrieval of methods for the increase of the efficiency of ventral hernia alloplasty is performed now; however the structural-functional changes of scar and muscle tissues during their reorganization are still little studied. **Objective.** The purpose of the work was to determine cellular and ultrastructural changes in the anterior abdominal wall with experimental alloplasty of ventral defects. **Methods.** The morphological analysis was carried out during 1 year. Transmission electron microscopy and immunohistochemistry of vascular markers CD34 and VEGF were used. **Results.** Early tissue reactions after plastics of a large ventral defect include expressive manifestations of acute aseptic inflammation and degenerative changes in muscle-aponeurotic structures in conditions of significant biomechanical tissue tension in the healing zone of the wound, regardless of the presence or absence of prosthesis material. The use of polypropylene mesh without tension and alignment of the edges of the defect reduces the severity of early ultrastructural damage. Immunohistochemical characteristic of muscle tissue on markers VEGF and SD34 within 1 year after hernioplasty of large ventral defect under conditions of tension of tissues testifies to the preservation of pathological changes and violation of the microvascular component. Prevention of biomechanical stresses of the muscular-aponeurotic layer leads to normalization of the distribution and expression levels of VEGF and CD34. **Conclusion.** In conditions of significant tissue tension after the plastics of a large ventral defect, there is a preservation of destructive ultrastructural changes in the microvessels and muscle-aponeurotic structures, regardless of the presence or absence of a monofilament polypropylene mesh. The lack of significant tissue tension creates conditions for the full integration of the prosthesis to muscle-aponeurotic structures.

Key words: experimental ventral defect, alloplasty, cellular reaction and regeneration, microcirculation.

Citation:

Malkov I.I. [Ultrastructural and immunohistochemical characteristics of the anterior abdominal wall tissue in experimental plastics of ventral hernias]. *Morphologia*. 2017;11(1):37-44. Ukrainian.

Вступ

Щороку у світі виконується 20 мільйонів операцій з приводу гризових дефектів, що становить від 10 до 15 % всіх оперативних втручань. В Україні частка таких втручань сягає 8-10 %. Численними експериментальними і клінічними

дослідженнями доведено доцільність застосування протезуючої герніопластики з використанням поліпропіленових сітчастих протезів [1-3]. Наразі триває пошук найбільш ефективних способів їх застосування, проте й досі всі ці способи не задовольняють хірургів, оскільки частота ре-

цидивів коливається від 10 до 20 % [4-6]. Подальший прогрес сучасної герніології можливий лише за умов досконалого вивчення тих складних патоморфологічних процесів, що відбуваються на рівні тканин і клітин. Це підтверджується появою багатьох досліджень, спрямованих на морфологічний аналіз змін при проведенні пластики гриж [7-10]. І саме це повинно стати реальним науковим підґрунтям для розробки оптимальних методів герніопластики.

Метою даної роботи було визначення клітинних і ультраструктурних змін у складі передньої черевної стінки при експериментальній алопластиці вентральних дефектів.

Матеріали та методи

Дизайн дослідження передбачав формування 5 експериментальних груп.

У 1-й групі у щурів висікали ділянку м'язово-апоневротичного шару черевної стінки розмірами 2×0,3 см по серединній лінії та пошарово ушивали дефект шляхом співставлення країв рани. В 2-й групі після висічення аналогічної ділянки зовні до м'язового шару фіксувалася поліпропіленова монофіламентна сітка «Prolene» розмірами 3×1,5 см. До 3-ї групи увійшли щури, в яких висікали ділянку черевної стінки розмірами 3×5 см по серединній лінії і пошарово ушивали дефект шляхом натягнення і співставлення країв рани. У 4-й групі після висічення аналогічної ділянки з натягненням її ушиванням дефекту до зовнішнього м'язового шару фіксувалася поліпропіленова сітка розмірами 5×1,5 см. У 5-й групі висікали аналогічну ділянку черевної стінки. Без натягнення і співставлення країв дефекту до зовнішнього м'язового шару фіксувався поліпропіленовий протез з наступним відновленням шкірного покриву.

Всього було оперовано та досліджено 116 зрілих щурів-самців у терміни: через 3 і 10 діб, 1, 3 і 12 місяців після проведення експериментальної герніопластики з урахуванням принципів біоетики [11, 12].

Для постановки імуногістохімічних реакцій використовували первинні моноклональні антитіла до фактора росту судинного ендотелія VEGF (LabVision) і до цитоспецифічного маркера ендотелію CD-34 (DAKO, Данія), який накопичується в цитоплазмі ендотеліальних клітин [13] і широко використовується для аналізу стану мікроциркуляції у складі м'язової тканини [14-17]. Проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологих камерах при температурі 23-25⁰ С на протязі 30 хвилин. Ідентифікацію реакції здійснювали за допомогою системи візуалізації EnVision (DakoCytomation) за допомогою хромогену DAB та додаткового забарвлення гематоксиліном Майєра.

Ультраструктурне дослідження біопатів проводили після фіксації зразків у 2,5%-ному розчині глутарового альдегіду. Для виготовлен-

ня епоксидних блоків використовували композицію епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікротомі УМТП-6М ("SELMI", Україна). Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЭМ-100-01 ("SELMI", Україна) при напрузі прискорення 65-90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 80000. Електронномікроскопічне дослідження проводили за стандартною схемою [18].

Результати та їх обговорення

При ультраструктурному дослідженні біопатів м'язово-апоневротичних структур через 3 доби після проведення пластики дефекту у тварин першої (без протезування) та другої (з імплантацією сітчастого поліпропіленового протезу) експериментальних груп у саркоплазмі м'язових волокон спостерігався значний внутрішньоклітинний набряк та поодинокі вакуолі. Загальна структура Т-трубочок і триад у більшості випадків відповідала нормальному плану будови. Ознаки деструкції міофібрил не виявлялися, проте за рахунок цитоплазматичного набряку м'язових волокон в зоні експериментального пошкодження між міофібрилами утворювалися значні простори з низькою електронною щільністю, які містили поліморфні мітохондрії (рис. 1). Переважна більшість мітохондрій зберігала цілісність зовнішніх і внутрішніх мембран.

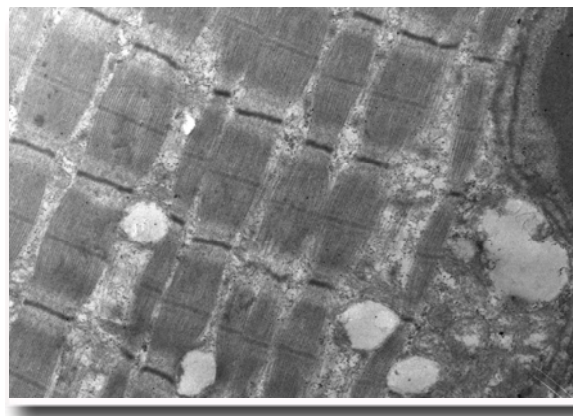


Рис. 1. Електронна мікрофотографія. М'язові волокна у складі передньої черевної стінки щура 1-ї експериментальної групи через 3 доби після оперативного втручання. × 5000.

Через 3 доби після експериментальної герніопластики у тварин 2-ї групи м'язові волокна черевної стінки поблизу розташування матеріалу сітчастого протезу містили частково фрагментовані саркомери поряд із поздовжнім розщепленням міофібрил, між якими спостерігалися накопичення набряклих кулястих мітохондрій та патологічно змінених елементів Т-системи. Для м'язових волокон у зоні імплантації протезу було характерним накопичення мітохондрій під сарколемою, переважно поблизу гемокапілярів.

В обох групах тварин мікросудини в області

експериментального дефекту характеризувалися виразним периваскулярним набряком, плазматичним просочуванням судинної стінки, поодинокими діapedезними крововиливами. Найбільшою мірою реагували мікросудини приносної ланки гемомікроциркуляторного русла та гемокапіляри. У складі апоневротичних структур черевної стінки виявлялися осередки помірної фрагментації колагенових волокон та дезорганізації їх пучків. На відміну від тварин після пластики без протезування, в групі з імплантацією поліпропіленової сітки на 3-тю добу експерименту відзначалася значна макрофагальна інфільтрація перикапілярного простору, набряк базальної мембрани та цитоплазми ендотелія мікросудинної стінки, навколосудинна плазморагія (рис. 2).

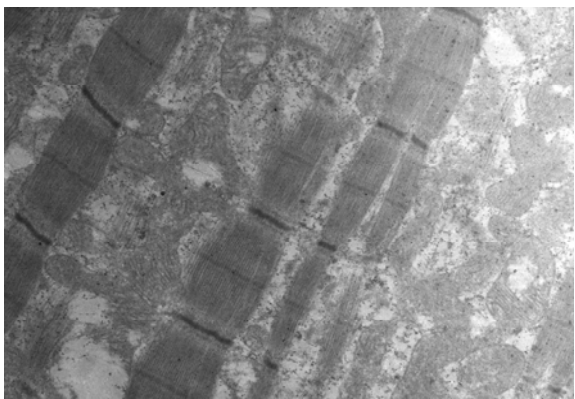


Рис. 2. Електронна мікрофотографія. М'язові волокна у складі передньої черевної стінки щура 2-ї експериментальної групи через 3 доби після оперативного втручання. × 5000.

Через 10 діб після проведення герніопластики в обох експериментальних групах спостерігалася активне відновлення ушкодженої ультреструктури м'язових волокон у зоні загоєння рани. Зокрема, явища цитоплазматичного набряку та вакуолізації саркоплазми суттєво зменшувалися у порівнянні з попереднім терміном експерименту. Також зменшувалися міжміофібрилярні проміжки з порушеною структурою саркоплазми, проте у тварин 2-ї експериментальної групи вони виявлялися помітно частіше, ніж у щурів після пластики без використання поліпропіленового протезу (рис. 3, 4). В обох групах дослідження відмічалася редукція ушкоджень мітохондрій та ендоплазматичної сітки, хоча у м'язових волокнах тварин 2-ї експериментальної групи безпосередньо поблизу імплантованої поліпропіленової сітки зберігалася нетипове субсарколемальне розташування поліморфних мітохондрій переважно кулястої форми з ознаками помірної функціональної активності. Проявів кристалізації або фрагментації зовнішньої мітохондріальної мембрани у цей період не спостерігалася.

Реакція мікросудин ендомізія м'язів передньої черевної стінки в зоні загоєння рани у тва-

рин обох експериментальних груп зберігалася у вигляді незначного периваскулярного набряку та лімфоцитарної інфільтрації. Плазматичне просочування мікросудинної стінки та крововиливи не виявлялися. У тварин 2-ї експериментальної групи навколо поліпропіленових філаментів протезу зберігалася макрофагальна інфільтрація ендомізія і перимізія, набряк базальної мембрани та цитоплазми ендотелія гемокапілярів. Виразність навколосудинної плазморагії значно зменшувалась.

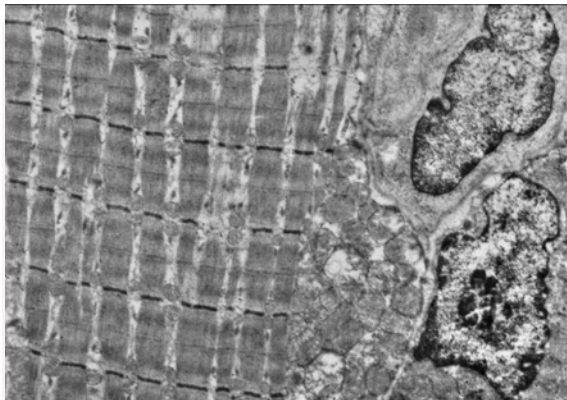


Рис. 3. Електронна мікрофотографія. М'язові волокна у складі передньої черевної стінки щура 1-ї експериментальної групи через 10 діб після оперативного втручання. × 3000.

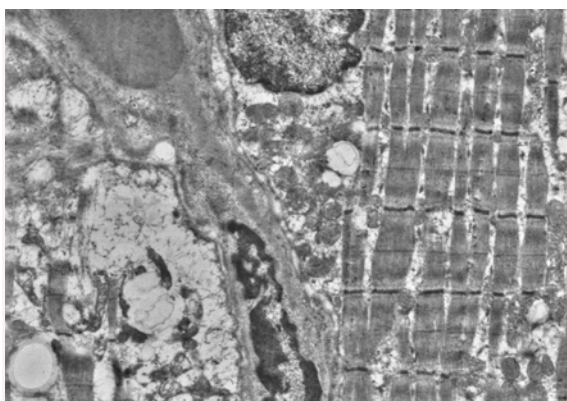


Рис. 4. Електронна мікрофотографія. М'язові волокна у складі передньої черевної стінки щура 2-ї експериментальної групи через 10 діб після оперативного втручання. × 3000.

В обох експериментальних групах в зоні загоєння рани поряд із змінами клітинного складу інфільтрату поблизу апоневротичних структур відзначалася поява фібробластів з ознаками помірної проліферативної та синтетичної активності. Спостерігалися поодинокі новоутворені гемокапіляри або їх попередники у вигляді скупчень ендотеліоцитів. Такі острівці формування молоді грануляційної тканини у тварин 1-ї експериментальної групи зустрічалися набагато частіше, ніж у тварин після пластики з використанням

поліпропіленової сітки.

У термін від 1-го до 3-х місяців після проведення експериментальної герніопластики в обох експериментальних групах відзначалася нормалізація ушкодженої ультраструктури м'язових волокон передньої черевної стінки. На відміну від попереднього терміну експерименту, явища цитоплазматичного набряку та вакуолізації саркоплазми не спостерігалися. У переважній більшості спостережень були відсутніми міжміофібрилярні проміжки з порушеною структурою саркоплазми. В обох групах дослідження мітохондрії та елементи ендоплазматичної сітки не містили будь-яких патологічних ознак. Проявів кристолізу або фрагментації зовнішньої мітохондріальної мембрани у цей період також не спостерігалося. У м'язових волокнах тварин 2-ї експериментальної групи безпосередньо поблизу імплантованої сітки ми не спостерігали субсарколемальне розташування мітохондрій, що було характерним для попереднього терміну дослідження. Переважна більшість функціонально активних мітохондрій локалізувалася між міофібрилами.

Через 3 місяці після проведення експериментальної герніопластики тканина рубця містила щільну масу колагенових волокон, що розташовувались окремими пучками з орієнтацією в різних напрямках і площинах. Деякі колагенові пучки розгалужувалися на окремі групи волокон завтовшки від 2 до 4 мкм, в яких поперечна посмугованість не виявлялася. Крім того, поряд із характерними циліндричними пучками зустрічались сплюснені групи волокон, що мали форму слабо закрученої спіралі. Кількість функціонально незрілих гемокапілярів зменшувалась, також відбувалася редукція кількості фібробластів (рис 5, 6). На наш погляд, це відображає активний процес утворення з подальшим ремоделюванням рубця у період від 1 до 3 місяців після проведення експериментальної герніопластики.

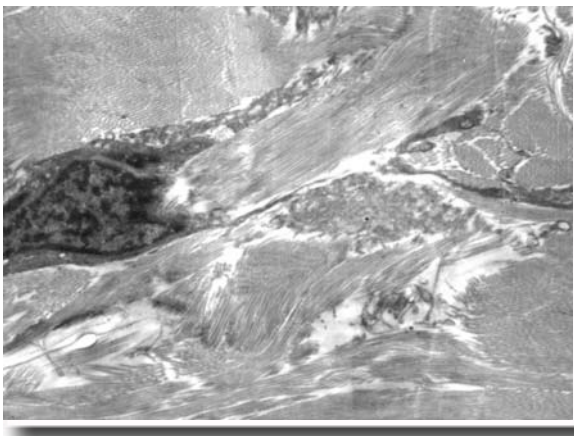


Рис. 5. Електронна мікрофотографія. Тканина рубця у складі передньої черевної стінки щура 1-ї експериментальної групи через 3 місяці після оперативного втручання. $\times 8000$.

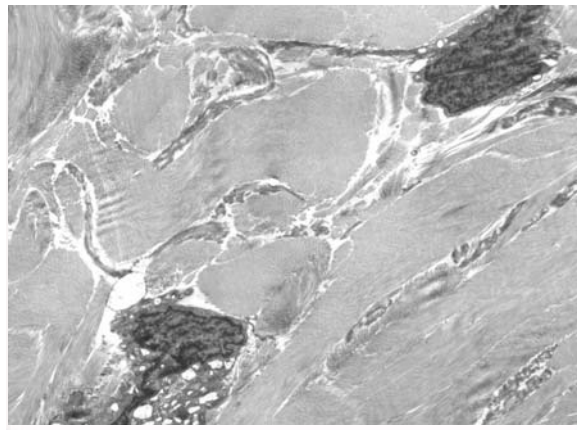


Рис. 6. Електронна мікрофотографія. Тканина рубця у складі передньої черевної стінки щура 2-ї експериментальної групи через 3 місяці після оперативного втручання. $\times 8000$.

У тварин 2-ї експериментальної групи після імплантації поліпропіленової сітки архітекtonіка сполучної тканини рубця не відрізнялася суттєво від такої в 1-й групі щурів. Клітинний склад, ультраструктура фібробластів і ендотеліоцитів, будова капілярної стінки поблизу монофіламентів протезу були такими ж, як і в групі без виконання алопластики, що свідчить про його повноцінну інтеграцію до м'язово-апоневротичних структур передньої черевної стінки. Навколо філаментів сітки спостерігалися суцільні капсулоподібні утворення з циркулярних упорядкованих колагенових волокон з поодинокими макрофагами поблизу гемокапілярів.

Ультраструктурне дослідження біопатів м'язово-апоневротичних структур через 1 рік після проведення герніопластики показало повну відповідність внутрішньоклітинної будови м'язових волокон передньої черевної стінки нормі в обох групах дослідження.

Імуногістохімічне дослідження біопатів через 3 доби після проведення експериментальної герніопластики в обох групах дослідження виявило високий рівень експресії VEGF у цитоплазмі м'язових волокон передньої черевної стінки, що поєднувалося з помірною експресією ендотеліального фактора CD34 у численних гемокапілярах, більшість яких була функціонально активною. При цьому спостерігалася помірна кількість VEGF-позитивних макрофагів у перивазальному просторі.

Через 10 днів після проведення герніопластики в обох експериментальних групах кількість таких макрофагів значно зменшувалась, натомість у складі набряклої тканини м'язів в зоні дефекту з'являлися поодинокі м'язові волокна з активною цитоплазматичною експресією маркера VEGF.

Через 3 місяці після пластики у м'язовій тканині передньої черевної стінки в обох експериментальних групах ми спостерігали невелику

кількість згрупованих дегенеративних VEGF-позитивних волокон. Тканина м'яза була насиченою дрібними волокнами із значним накопиченням фактора VEGF у цитоплазмі, які знаходилися на різних стадіях регенерації. Якщо у цей термін дослідження переважали активовані сателітні міоцити, а більш зрілі диференційовані волокна склали лише незначну частку, то через 3 місяці в обох групах дослідження візуалізувалися зрілі VEGF-позитивні волокна з помірною експресією. Важливо відзначити, що щільність CD34-позитивних елементів помітно зростала, що свідчило про активність процесів неоваскулогенезу за рахунок збільшення новоутворених гемокапілярів.

Дослідження біоптатів м'язового компонента черевної стінки через 1 рік після проведення герніопластики показало низький рівень цитоплазматичної експресії VEGF у більшості м'язових волокон. Щільність CD34-позитивних елементів у прилеглих до зони експериментального дефекту ділянках залишалася високою, як і на попередньому етапі дослідження, в обох групах тварин.

Ультраструктурний аналіз біоптатів м'язово-апоневротичних структур через 3 доби після проведення пластики великого за розмірами вентрального дефекту виявив суттєву залежність тканинної реакції та процесів регенерації від способу експериментальної герніопластики. Зокрема, через 3 доби після пластики без протезування (група 3) у саркоплазмі м'язових волокон черевної стінки спостерігався значний набряк, виразна вакуолізація, розпушення та дрібноосередкова деструкція міофібрил. Телофрагми змінювали свою лінійну форму, втрачали суцільність (рис. 7).

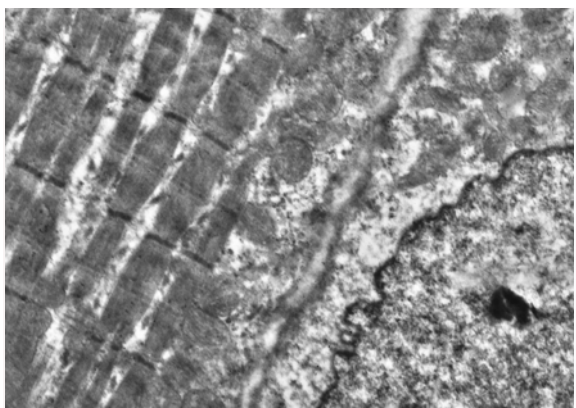


Рис. 7. Електронна мікрофотографія. М'язові волокна у складі передньої черевної стінки щура 3-ї експериментальної групи через 3 доби після оперативного втручання. $\times 3000$.

A- та I-диски у складі саркомерів мали нечіткі межі, у деяких міофібрилах зовсім не виявлялися. Схожі патологічні зміни міофібрилярного

апарату спостерігалися у тварин 4-ї і 5-ї експериментальних груп (протезуюча пластика поліпропіленовою сіткою з натягом або без натягу країв м'язово-апоневротичного дефекту відповідно). У цих групах, крім означених змін, поблизу розташування матеріалу протезу спостерігалися великі ділянки саркоплазми м'язових волокон з дегенерацією цитоплазматичних структур і гомогенізацією саркоплазми (рис. 8).



Рис. 8. Електронна мікрофотографія. М'язові волокна у складі передньої черевної стінки щура 5-ї експериментальної групи через 3 доби після оперативного втручання. $\times 3000$.

У кожній з трьох груп тварин за рахунок цитоплазматичного набряку м'язових волокон в зоні пластики між міофібрилами утворювалися значні простори з низькою електронною щільністю, які містили нерівномірно розширені елементи T-системи, а також поліморфні мітохондрії. Частка мітохондрій зберігала цілісність зовнішніх і внутрішніх мембран, проте щільність мітохондріальних крист була незначною. Інші мітохондрії мали кулясту форму, збільшені розміри, ознаки кристалізації. Під сарколемою часто зустрічались органели з фрагментованими мембранами.

Через 3 доби після пластики у всіх тварин в області експериментального дефекту спостерігалися розвинені явища периваскулярного набряку, плазматичне просочування судинної стінки або порушення її цілісності, часті дрібноосередкові крововиливи, масивна нейтрофільна інфільтрація. Найбільшою мірою реагували мікросудини приносячої ланки гемомікроциркуляторного русла.

У тварин 3-ї та 4-ї експериментальних груп (після пластики з натягом країв дефекту) у складі апоневротичних структур черевної стінки виявлялися численні осередки фрагментації колагенових волокон та дезорганізації їх пучків. Розміри, орієнтація та форма пучків значно варіювали. Між пучками спостерігалися великі міжволоконні простори з низькою електронною щільністю. На відміну від тварин після пластики з натягом

тканин, у щурів 5-ї групи (протезуюча пластика без співставлення країв дефекту) на 3-тю добу експерименту ступінь ушкодження сполучної тканини апоневрозу був значно нижчим.

Через 10 днів після проведення експериментальної герніопластики у тварин 3-ї і 4-ї груп спостерігалось поглиблення ушкоджень ультраструктури м'язових волокон у зоні загоєння рани. Зберігалися явища цитоплазматичного набряку та вакуолізації саркоплазми, деструкція міофібрил. У порівнянні з попереднім терміном експерименту поширювалися ділянки з порушенням будови саркомерів, деструкцією телофрагм, А- та І-дисків у їх складі. У даних спостереженнях посилення ступеня цитоплазматичного набряку м'язових волокон в зоні пластики призводило до значної дисоціації органел між міофібрилами, нерівномірного розширення цистерн Т-системи. Більшість мітохондрій характеризувалася ознаками глибоких структурних ушкоджень: кристалізом, фрагментацією зовнішніх і внутрішніх мембран, посиленням поліморфії. Мітохондрії, що зберігали цілісність мембран та крист, зустрічалися у невеликій кількості і локалізувалися переважно під сарколемою. Між міофібрилами зберігалися значні за розмірами ділянки з ознаками дегенерацією цитоплазматичних структур і гомогенізацією саркоплазми.

Навпроти, у тварин 5-ї експериментальної групи через 10 днів після протезуючої пластики без натягу тканин м'язово-апоневротичного шару поблизу імплантату спостерігалися деструктивні зміни м'язових волокон, що не перевищували за виразністю попередній термін експерименту. Крім того, спостерігалось обмеження міжміофібрилярного набряку, помірне звуження ділянок повної деструкції саркоплазми.

Через 1 рік після проведення герніопластики великого за розмірами вентрального дефекту ультраструктурне дослідження біоптатів м'язово-апоневротичних структур показало істотну залежність внутрішньоклітинної будови м'язових волокон передньої черевної стінки від післяопераційної напруги тканин. Зокрема, у тварин 3-ї та 4-ї експериментальних груп спостерігалися ділянки саркоплазми з ознаками деструкції міофібрил, порушенням будови саркомерів і дисоціацією міофіламентів, ушкодженням елементів Т-системи та поліморфних мітохондрій з переважною субсарколемальною локалізацією. Між міофібрилами зберігалися ділянки атрофії саркоплазматичних структур (рис. 9). Навпроти, у тварин 5-ї експериментальної групи через 1 рік після протезуючої пластики без натягу тканин м'язово-апоневротичного шару рівномірні за товщиною міофібрили розташовувались паралельно одна одній вздовж волокон (рис. 10). Міжміофібрилярні проміжки містили функціонально активні мітохондрії. Елементи ендоплазматичної сітки не виявляли будь-яких патологічних ознак.

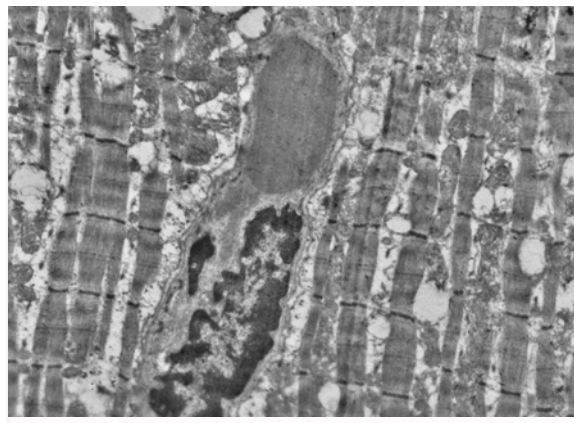


Рис. 9. Електронна мікрофотографія. М'язові волокна у складі передньої черевної стінки щура 4-ї експериментальної групи через 1 рік після оперативного втручання. $\times 3000$.

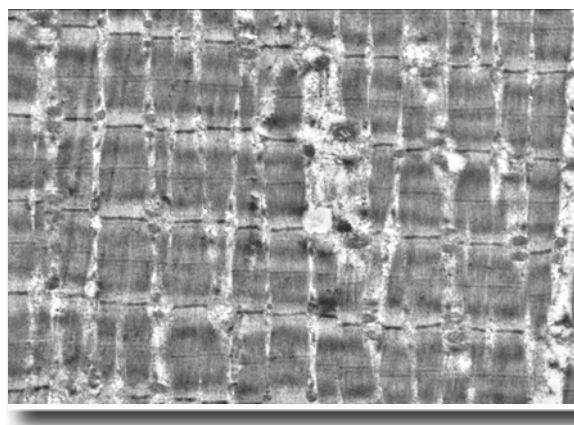


Рис. 10. Електронна мікрофотографія. М'язові волокна у складі передньої черевної стінки щура 5-ї експериментальної групи через 1 рік після оперативного втручання. $\times 4000$.

У тварин 3-ї та 4-ї експериментальних груп (пластика з натягом тканин) спостерігалися ділянки передньої черевної стінки з осередками периваскулярного набряку, нейтрофільної та лімфоцитарної інфільтрації, плазматичного просочування мікросудинної стінки та крововиливів. Навколо поліпропіленових філаментів протезу в 4-й групі тварин відзначалися явища інфільтрації ендомізія і перимізія, набряку базальної мембрани та цитоплазми ендотелія гемокапілярів. У поодиноких спостереженнях виявлялася помірна навколосудинна плазморагія.

На відміну від герніопластики з натягом тканин м'язово-апоневротичного шару, у тварин 5-ї експериментальної групи через 1 рік спостереження мікросудини в зоні дефекту черевної стінки мали типову будову, ушкодження мікросудинної стінки та крововиливи не виявлялися, макрофагальна інфільтрація навколосудинного простору була відсутня. Гемокапіляри зустрічалися в незначній кількості і були функціонально зрілими. Навколо філаментів поліпропіленової

сітки виявлялися суцільні капсулоподібні мікромуфти, побудовані з циркулярних зрілих колагенових волокон без гемокапілярів.

Імуногістохімічне дослідження біоптатів через 3 доби після проведення експериментальної герніопластики великого за розмірами вентрального дефекту в трьох групах дослідження виявило високий рівень експресії VEGF у цитоплазмі неушкоджених м'язових волокон передньої черевної стінки, проте між означеними волокнами спостерігалися окремі дрібні ділянки деструкції м'язів з порушеними волокнами, в яких експресія VEGF була відсутня. Імуногістохімічна мітка ендотеліального фактора CD34 виявлялася у помірному ступені у досліджуваних групах, проте функціонально активні гемокапіляри переважали лише у 5-й групі тварин (протезуюча пластика без натягу тканин м'язово-апоневротичного шару). Помірна кількість VEGF-позитивних макрофагів у перивазальному просторі виявлялася у більшості спостережень.

Через 3 місяці після пластики у м'язовій тканині передньої черевної стінки тварин 3-ї та 4-ї експериментальних груп ми спостерігали значну кількість згрупованих дегенеративних VEGF-позитивних волокон. Тканина м'язів черевної стінки у щурів 5-ї групи поблизу імплантованого поліпропіленового протезу була насиченою дрібними волокнами із значним накопиченням фактора VEGF у цитоплазмі, які знаходилися на різних стадіях регенерації. У цей термін дослідження переважали активовані сателітні міоцити, а більш зрілі диференційовані волокна складали лише незначну частку. Через 3 місяці після проведення протезуючої пластики без натягу тканин візуалізувалися переважно зрілі VEGF-позитивні волокна з помірною експресією. Щільність CD34-позитивних елементів була помірною.

Через 1 рік після проведення герніопластики в обох групах тварин, де використовували натяг м'язово-апоневротичного шару черевної стінки, дослідження біоптатів м'язового компонента показало помірний рівень цитоплазматичної експресії VEGF у більшості м'язових волокон. Поряд із ними зустрічались VEGF-негативні волокна з ознаками атрофії. У даних спостереженнях щільність CD34-позитивних елементів у прилеглих до зони експериментального дефекту ділянках залишалася помірною, як і на попередньому етапі дослідження. У 5-й групі тварин (протезуюча пластика без натягу тканин м'язово-апоневротичного шару) на тлі нормальної цитоархітекtonіки м'язових волокон спостерігалася помірна рівномірна експресія VEGF. Розподіл CD34-позитивних елементів між волокнами також був рівномірним.

Висновки

1. Ранні тканинні реакції через 3 доби після пластики експериментального вентрального де-

фекту включають не лише прояви гострого асептичного запалення з відповідними змінами мікросудин, але й ультраструктурні перебудови м'язово-апоневротичних структур у зоні загоєння рани. Через 10 діб після пластики експериментального вентрального дефекту відбувається значна редукція ультраструктурних змін мікросудин і м'язово-апоневротичних структур як проявів асептичного запалення, проте у відповідь на присутність поліпропіленового протезу тканинні компоненти передньої черевної стінки продовжують виявляти порушену локалізацію міофібрил і мітохондрій у складі м'язових волокон, виразну макрофагальну інфільтрацію, ушкодження стінки гемокапілярів.

2. Навіть за умов подовження термінів запальної реакції в зоні загоєння присутність поліпропіленового протезу не порушує загальний перебіг регенеративних процесів у м'язовому, сполучнотканинному і мікросудинному компонентах передньої черевної стінки.

3. Імуногістохімічна характеристика м'язової тканини по маркерах VEGF і SD34 протягом 1 року після герніопластики свідчить про нормалізацію рівня васкуляризації м'язів передньої черевної стінки як з використанням протезу, так і без його застосування.

4. Ранні тканинні реакції через 3 доби після пластики великого за розмірами вентрального дефекту включають виразні прояви гострого асептичного запалення і дегенеративні зміни м'язово-апоневротичних структур за умов значної біомеханічної напруги тканин у зоні загоєння рани незалежно від присутності або відсутності матеріалу протезу. Застосування поліпропіленової сітки без натягу та співставлення країв дефекту зменшує виразність ранніх ультраструктурних ушкоджень.

5. За умов значної напруги тканин протягом 1-3 місяців після пластики великого вентрального дефекту відбувається збереження деструктивних ультраструктурних змін мікросудин і м'язово-апоневротичних структур незалежно від наявності або відсутності монофіламентної поліпропіленової сітки. Відсутність значного натягу тканин створює умови для повноцінної інтеграції протезу до м'язово-апоневротичних структур передньої черевної стінки.

6. Імуногістохімічна картина по маркерах VEGF і SD34 протягом 1 року після герніопластики великого вентрального дефекту за умов натягу тканин свідчить про збереження патологічних змін та порушення мікросудинного компонента. Навпроти, запобігання біомеханічної напруги призводить до нормалізації розподілу та рівнів експресії маркерів VEGF і CD34.

Перспективним напрямком подальших досліджень є вивчення кореляцій між морфологічними змінами на різних рівнях організації структур.

Литературні джерела References

1. Burger JW, Halm JA, Wijsmuller AR, ten Raa S, Jeekel J. Evaluation of new prosthetic meshes for ventral hernia repair. *Surg Endosc.* 2006;20(8):1320-5. PMID: 16865616.
2. Fedorov IV, Chugunov AN. [Prostheses in hernia surgery: a century of evolution]. *Gerniologiya.* 2004;2:45-53. Russian.
3. Soloviev NA, Chudnykh SM, Ivanov YuV. [Hernioplasty for large and giant ventral hernias]. *Gerniologiya.* 2004;3:45. Russian.
4. Cornell RB, Kerlakian GM. Early complications and outcomes of the current technique of transperitoneal laparoscopic herniorrhaphy and a comparison to the traditional open approach. *Am J Surg.* 1994;168(3):275-9. PMID: 8080067.
5. Berger D, Bientzle M, Müller A. Postoperative complications after laparoscopic incisional hernia repair. Incidence and treatment. *Surg Endosc.* 2002;16(12):1720-3. PMID: 12209325.
6. Tserov IA, Bazaev AV. [Surgical treatment of patients with ventral hernias: modern state]. *Modern technologies in medicine.* 2010;4:122-7. Russian.
7. Dubova YeA, Yegiev VN, Schegolev AI. [Morphological changes in the zone of fibroblast-coated mesh stents implantation]. In: [Proceedings of 1st International conference 'Modern technologies and capabilities in reconstructive and aesthetic surgery']. *Almanakh Instituta khirurgii imeni A.V. Vishnevskogo.* 2008;2:26-7. Russian.
8. Tverdokhle IV, Svisenko OV, Malkov II. [Morphological aspects of the study of tissue reactions in the application of synthetic materials in experimental hernioplasty]. *Morphologia.* 2010;4(4):5-12. Russian.
9. Malkov II, Tverdokhle IV. [Dynamics of anterior abdominal wall tissues after experimental alloplasty]. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2013;3(7):56-9. Russian.
10. Malkov II, Tverdokhle IV. [The dynamics of morphological tissue changes in anterior abdominal wall of rats after plasty of considerable ventral defect]. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny.* 2016;2(2):195-9. Ukrainian.
11. Mishalov VD, Chaikovskiy JuB, Tverdokhle IV. [About legal, legislative, ethical standards and requirements at performance scientific morphological researches]. *Morphologia.* 2007;1(2):108-15. Ukrainian.
12. Mishalov VD, Tverdokhle IV, Yurchenko VT. [Legal and legislative study of biological objects be withdrawn from human corpse for scientific research in anatomy, histology, cytology]. *Morphologia.* 2016;10(1):107-11. Ukrainian.
13. Garlanda C, Berthier R, Garin J. Characterization of MEC 14.7, new monoclonal antibody recognizing mouse CD34: a useful reagent for identifying and characterizing blood vessels and hematopoietic precursors. *Eur J Cell Biol.* 1997;73:368-77.
14. Shkuropat VM, Tverdokhle IV, Drjuk MF. [Quantitative morphological estimation of surgical treatment of patients with a chronic ischemia of the lower limb with the direct, indirect and composite revascularization]. *Morphologia.* 2008;2(4):60-71. Ukrainian.
15. Shkuropat VM, Tverdokhle IV, Drjuk MF. [Immunohistochemical and ultrastructural characteristics of results of surgical treatment of patients with III degree chronic ischemia of lower limb]. *Morphologia.* 2009;3(3):142-53. Ukrainian.
16. Shkuropat VM, Tverdokhle IV, Drjuk MF. [Characteristics of VEGF and CD34 after the surgical treatment of patients with iii degree chronic ischemia of lower limb]. *Morphologia.* 2010;4(2):53-64. Ukrainian.
17. Shkuropat VM, Tverdokhle IV, Baranov IV, Safronkov NA. [Immunohistochemical characteristics of muscular tissue during surgical treatment of patients with III degree chronic ischemia of lower limb]. *Morphologia.* 2015;9(1):71-7. Ukrainian.
18. Mironov AA, Komissarchik YuYa, Mironov VA. *Metody elektronnoy mikroskopii v biologii i meditsine: Metodicheskoe rukovodstvo.* [Electron microscopy methods in biology and medicine : Methodological Guide]. St. Petersburg: Science; 1994. 400 p. Russian.

Малков И.И. Ультраструктурная и иммуногистохимическая характеристика тканей передней брюшной стенки при экспериментальной пластике ventральных грыж.

Реферат. Целью работы было определение клеточных и ультраструктурных изменений в составе передней брюшной стенки при экспериментальной аллопластике ventральных дефектов. Морфологическое исследование проводили в течение 1 года с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и иммуногистохимии сосудистых маркеров CD34 и VEGF. Установлено, что в условиях значительного напряжения тканей после пластики большого ventрального дефекта происходит сохранение деструктивных ультраструктурных изменений независимо от наличия или отсутствия протеза. Отсутствие значительного натяжения тканей создает условия для полноценной интеграции протеза в мышечно-апоневротические структуры. Предупреждение биомеханического напряжения мышечно-апоневротического слоя приводит к нормализации распределения и уровней экспрессии маркеров VEGF и CD34.