

patients with endomorphic somatotype. Indicators of the thickness and volume of the single left and right kidneys in patients, depending on the somatotype, were not statistically significantly different.

**Conclusions.** It was established that morphometric parameters of a single kidney (length, width, thickness and volume) of patients of all somatotypes were statistically significantly different from those in patients without kidney and urinary tract diseases. The length of the left and right kidneys in both men and women was greatest in patients with ectomorphic somatotype, and the smallest in patients with endomorphic somatotype. The measure of the length of a single kidney of patients with mesomorphic somatotype was less ( $p < 0.05$ ) compared to the same indicator in patients with ectomorphic somatotype and greater ( $p < 0.05$ ) compared to those in patients with endomorphic somatotype.

**Key words:** single kidney, somatotypes, kidney size, magnetic resonance imaging (MRI).

*Рецензент – проф. Проніна О. М.*

*Стаття надійшла 27.03.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-1-2-143-316-319

УДК 617.55-007.43-089.168.1-089.844

*Фелештинський Я. П., Борн Є. Є., Дядик О. О., Григоровська А. В., Козлова К. С.*

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ КОЛАГЕНОВОГО ІМПЛАНТАТУ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ПАРАРЕКТАЛЬНИХ НОРИЦЬ

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (м. Київ)

dentexpres@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота є фрагментом НДР: «Розробка нових відкритих та лапароскопічних методів хірургічного лікування захворювань передньої черевної стінки та органів черевної порожнини» (державний реєстраційний номер 0115U002170).

**Вступ.** Параректальні нориці становлять 0,5-4% серед із загально-хірургічних та 15-40% в структурі проктологічних захворювань [1,2,3,4,5]. Не дивлячись на досягнення, за останні роки в хірургічному лікуванні хронічного парапроктиту залишається достатньо висока частота незадовільних результатів лікування. Рецидиви нориць прямої кишки спостерігаються у 5,2-40,2% хворих, у 13-20% відмічаються гнійно-запальні ускладнення в рані, у 17-36% хворих відмічається дискомфорт в ділянці заднього проходу [4,5,6,7].

Серед причин виникнення рецидиву нориць прямої кишки основним є неліквідований внутрішній отвір нориці, залишення її стінки та розгалужень в параректальній клітковині при виконанні хірургічного втручання. Незважаючи на значну кількість різних способів хірургічного лікування хронічного парапроктиту, до теперішнього часу немає «універсального» який гарантує повну ліквідацію норицевого ходу та виключає виникнення рецидиву захворювання при використанні радикальних методик хірургічного лікування [1,4,8,9].

Крім цього найбільш гострим і актуальним завданням на сьогоднішній день залишається рання діагностика складних форм хронічного парапроктиту та вибору адекватної методики хірургічного лікування ішеоректального, пельвіоректального, ретроректального і підковоподібного 3-4-го ступеню складності. Використання сучасних методик хірургічного лікування хронічного парапроктиту з використанням інтрасфінктерного лігування норицевого ходу, пере-

міщення слизового клаптя та метод пломбування норицевого ходу колагеновою пробкою значно зменшує частоту рецидивів.

Водночас при використанні методики лігування норицевого ходу у міжсфінктерному просторі залишається високий відсоток рецидиву захворювання в зв'язку з тим, що норицевий хід не видалається, а тільки перев'язується. При використанні методики Analfistulaplug-шляхом obturaції норицевого ходу колагеновим імплантатом, залишається висока частота рецидивів та відторгнення імплантату, враховуючи відсутність видалення норицевого ходу та її внутрішнього отвору [9,10,11,12,13,14].

**Мета дослідження** – експериментально обґрунтувати доцільність закриття дефекту кишкової стінки колагеновим імплантатом.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експериментально-морфологічне дослідження було проведено на 80 статевозрілих щурах лінії Wistar, масою  $226 \pm 4,6$  г. В залежності від варіанту закриття дефекту кишкової стінки тварини були розподілені на 2 групи. У I групі - основній (40 тварин) використовували закриття дефекту кишкової стінки ліофілізованим колагеновим імплантатом. Біологічний імплантат з листової свинної шкіри, позбавлений антигенної структури і спаяний хімічно (cross-linking). У II групі - порівняння (40 тварин) – ушивання дефекту кишкової стінки вузловими швами.

Всіх тварин утримували на стандартному повноцінному харчуванні. Температура повітря в приміщенні підтримувалася на рівні 20-24 °C, режим освітлення: з 8<sup>00</sup> до 20<sup>00</sup> – світло, з 20<sup>00</sup> до 8<sup>00</sup> – сутінкове освітлення. В післяопераційному періоді кожну групу тварин утримували в окремій клітці при однакових умовах.

Анестезію проводили інтраперитонеальним введенням 5% розчину кетаміну із розрахунку 0,3 мл на

100 грам ваги. Глибока анестезія наступала через 3-5 хвилин і тривала в середньому 30 хв. В ході оперативного втручання тварин фіксували до хірургічної дощечки в положенні лежачи на спині, операційне поле вибривали, обробляли розчином кутасепту та спирту, обкладали стерильними серветками, після чого виконували лапаротомію та моделювали дефект черевної стінки шляхом висічення м'язево-апоневротичних тканин розміром 0,5x1,5 см. Потім виконували алопластику дефекту з використанням плівок розмірами 2x2 см.

З експерименту тварин виводили, з дотриманням умов ефтаназії, у рівній кількості з кожної групи шляхом передозування тіопенталу натрію через 30, 60 та 120 діб після імплантації. Вивчали наявність зрощень петель кишечника та чепця з колагеновим імплантатом та оцінювали проростання сполучною тканиною на ділянках закриття дефекту колагеновим імплантатом.

Для цього висікали ділянки товстої кишки з колагеновим імплантатом розмірами 1x1,5 см та проводили їх гістологічне дослідження на кафедрі патологічної та топографічної анатомії НМАПО імені П.Л. Шупика. Зразки тканини фіксували в 10%-му розчині нейтрального формаліну (рН 7,4) протягом 24 годин. Після фіксування у формаліні зразки промивали в проточній воді, вирізали відповідні ділянки, препарати зневоднювалися шляхом проводки через спирти зростаючої міцності та заливали в парафін. З парафінових блоків на ротаційному мікротомі ММ 325 (ThermoShandon, Англія) виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм, які потім забарвлювали гематоксиліном і еозином, пікрофуксином за Ван Гізоном, ставили PAS-реакцію. Для визначення фенотипу клітинного інфільтрату, особливостей сполучної та м'язової тканини проводили імуногістохімічне дослідження (ІГХД). Для ІГХД зрізи поміщалися на вкриті адгезивом скельця SuperFrostPlus (Menzel, Німеччина). Задля «демаскирування» антигенів регідратовані зрізи підлягали термічній обробці у розчині TargetRetrievalSolution (DAKO, Данія) із використанням мікрохвильової печі. Останні оброблювали ферментативно-протеїназою К (DAKO) протягом 5 хвилин. Після чого проводили блокування ендогенної пероксидазної активності пероксидазним блоком (DAKO) та неспецифічного зв'язування протеїновим блоком (DAKO), після чого наносили первинні антитіла. Було використано кролячі моноклональні антитіла до CD3 (Т-лімфоцити), (Clone SP7), мишачі моноклональні антитіла до CD20 (В-лімфоцити) (Clone L26), CD68 (макрофаги) (Clone PGM1), віментин Ab-2 (Vimentin) (Clone V9), гладком'язовий актин  $\alpha$ -SMA (Clone 1A4). Візуалізацію первинних антитіл проводили за допомогою високочутливої полімерної системи детекції UltraVisionQuantoDetectionsystem HRP polymer (Lab Vision Corporation, США).

Експериментальні дослідження було проведено з дотримання вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвен-

цію про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Мікроскопічне дослідження та фотографування проводили із використанням світлооптичних мікроскопів «ZEISS» (Німеччина) з системою обробки даних «AxioImager. A2» при збільшенні об'єктивів 5x, 10x, 20x, 40x, біокулярної насадки 1,5 та окулярів 10 з камерою ERc 5s. та «ZEISS» (Німеччина) з системою обробки даних PrimoStar з планохроматичними об'єктивами ZEISS «Plan-Achromat» 4x, 10x, 40x з камерою AxioCam 105color.

**Результати досліджень та їх обговорення.** В ранньому післяопераційному періоді 11 щурів померли: 2 тварини (10,0%) із I групи та 1 тварина (5,0%) із II групи (передозування наркозних засобів); 16 тварин (80,0%) із II групи (виражений спайковий процес та абсцеси черевної порожнини); 2 тварини (10,0%) із II групи (інфікування післяопераційної рани, утворення абсцесів).

Макроскопічна ревізія черевної порожнини оперованих щурів на 1-10, 14, 21 добу показала, що у тварин в I групі відсутні спайки між краями імплантату, де був контакт з кишечником та внутрішніми органами. Імплантат добре проріс зі сторони кишкової стінки.

При оцінці наявності спайкового процесу у 2 тварин (10,0%) в I групі спайки між внутрішніми органами не візуалізувались, у 2 тварин (6,6%) відмічено інфікування післяопераційної рани, абсцеси в черевній стінці; у тварин II групи відмічена наявність грубих спайок між всією поверхнею сітки кишки та внутрішніми органами, візуалізувались міжпетельні абсцеси.

Рецидив захворювання виник у 1 тварини в I групі (3,3%), тоді як і II групі такий показник дорівнював 16,6% (5 тварин).

У ході експериментального дослідження оперованої кишки у тварин I групи на 14-тий день були виявлені фрагменти стінки кишки з різко зміненою структурою, зі значними ділянками несвіжої геморагічної інфільтрації і осередками фібриноїдного некрозу. Інфільтрат під фібриноїдним некрозом майже такий самий за складом як і в решті слизової оболонки (плазматичні клітини, лімфоцити, поодинокі макрофаги), з невеликою кількістю поліморфно-ядерних лейкоцитів. В інтактній частині кишки розвивається ряд компенсаторних змін, які включають потовщення слизової оболонки, подовження ворсинок та поглиблення крипт, а також прискорення міграції клітин. Такий процес можна розглядати як пристосувально-захисну реакцію направлену на зменшення виразкового дефекту. Незріла сполучна (грануляційна) тканина активно проліферує як по краю дефекта, так і навколо нього, та має рихлий вигляд за рахунок опосередкованої деградації пошкоджених структур, викликаної активністю макрофагів, та заміщенням останніх численними новоутвореними волокнами колагену.

На 21 день значно зменшується кількість фіброblastів: в клітинному складі переважають фіброцити, які стиснені паралельно розташованими волокна-

ми позаклітинного матриксу, збільшується кількість колагенових волокон, які продукують колаген в ділянках дефекту. Останній виглядає більш щільним, порівняно з 14-им днем з моменту оперативного втручання. Подекуди трапляються моноклеарні запальні інфільтрати. Спостерігаються ознаки процесу початкової епітелізації.

На 28-ий день в біоптаті оперованої ділянки стінки кишки визначається завершене формування зрілої сполучної тканини: дефект слизового шару цілком епітелізований з незначною контракцією. Грануляційна тканина заміщена організованою фіброзною тканиною з регресом більшості капілярів та судин мікроциркуляторного русла.

При дослідженні тварин II в препаратах оперованої кишки, яка була ушита вузловими швами, визначається переважання процесів проліферативного запалення з утворенням сформованих гранульом іноридних тіл навколо хірургічного шовного матеріалу. Морфологічні ознаки свідчать про хронічний рецидивуючий перебіг запального процесу в стінці кишки, який додатково провокується та підтримується шовним матеріалом. Також має місце спайковий процес між петлями товстої кишки з організацією спайок та стенозом просвіту кишки.

Згідно представленим даним очевидно, що використання колагенового імплантату для закриття дефекту кишкової стінки в порівнянні з методикою ушивання вузловими швами має значну перевагу. Разом з тим, результати імуногістохімічного дослідження довели, що використаний імплантат сприяє відсутності запальної реакції в стінці кишки, володіє здатністю прискорювати процеси регенерації та сприяти відновлення анатомічної цілісності всіх шарів в зоні дефекту.

Загалом, експериментальна оцінка комплексного хірургічного лікування з використанням колагенового імплантату показала значне зниження (в 4,5 рази) ускладнень з боку післяопераційної рани у порівнянні

з методикою ушивання вузловими швами за показником інфікування рани (відповідно 6,6% проти 30,0% випадків).

Результати гістологічного дослідження показали перевагу комплексного хірургічного лікування з використанням запропонованого колагенового імплантату над вузловим ушиванням дефекту, яка підтверджувалась рівномірним проростанням імплантату сполучною тканиною з поодинокими вогнищами хронічного запалення. Застосування методики вузлового ушивання дефекту кишкової стінки призвело в експерименті до нерівномірного розростання сполучної тканини навколо шовного матеріалу з вогнищами вираженого продуктивного запалення.

### Висновки

1. Обґрунтована можливість розміщення колагенового імплантату в тканинах експериментальних тварин при наявності бактеріальної інфекції за рахунок прискореного утворення власного колагену в ділянці сформованої нориці.

2. Доведено, що стійкість імплантату до бактеріальних колагеназ запобігає його передчасній резорбції, чим забезпечує надійну механічну стабільність.

3. Експериментально доведена наявність активного рівномірного проростання імплантату сполучною тканиною, що забезпечує надійну механічну стабільність та ліквідує підґрунтя для виникнення рецидиву (відповідно в 3,3% проти 16,6% спостережень).

**Перспективи подальших досліджень.** Проведені експериментальні дослідження щодо хірургічного лікування параректальних нориць з використанням колагенового імплантату, враховуючи його властивості, які об'єктивно підтверджені результатами ряду морфологічних, гістологічних, імуногістохімічних і мікроскопічних показників стають перспективними в контексті доказової медицини стосовно його застосування в клінічній практиці і подальшого опрацювання новітніх методик хірургічних втручань.

### Література

1. Lurin IA, Tsema EV. Srovnatel'naya otsenka otdalennykh rezultatov lecheniya bolnykh s ekstrasfinkternymi svischami pryamoy kishki s ispolzovaniem sovremennykh, hirurgicheskikh metodik. Ukr. med. zhurn. 2006;4:76-8. [in Russian].
2. Vorob'ev GI, redactor. Osnovi koloproktologii. Rostov-na-Dony: Feniks; 2001. 117 s. [in Russian].
3. Shelyigin YuA, redactor. Klinicheskie rekomendatsii. Koloproktologiya. M.: GEOTAR-Media; 2015. 528 s. [in Russian].
4. Chernov AA, Zhukov BN, Isaev VR. Optimizatsiya hirurgicheskogo lecheniya bolnykh so slozhnyimi ekstra i chrezsfinkternymi pararektalnymi svischami. Kazan. med. zhurn. 2007;6:604-5. [in Russian].
5. Göttgens KW, Janssen PT, Heemskerk J, van Dielen FM, Konsten JL, Lettinga T, et al. Long-term outcome of low perianal fistulas treated by fistulotomy: a multicenter study. Int J Colorectal Dis. 2015 Dec 16;30:213-9.
6. Bleier JI, Moloo H, Goldberg SM. Ligation of the intersphincteric fistulatract: an effective new technique for complex fistulas. Dis. Colon. Rectum. 2010 Jan 12;53:43-6.
7. Jess P&, Bulut O. Small bowel obstruction after reconstruction of the pelvic floor with porcine dermal collagen (Permacol™) after extended abdominoperineal lextirpation for rectal cancer: report of two cases. Colorectal Disease. 2010 Feb 3;60:178-9.
8. Giamundo P, Esercizio L, Geraci M, Tibaldi L, Valente M. Fistula-tract Laser Closure (FiLaC™): long-term results and new operative strategies. Tech Coloproctol. 2015 Mar 11;19(8):449-50.
9. Christoforidis D, Pieh MC, Madott RD, Mellgre AF. Treatment of transsphincteric anal fistulas by endorectal advancement flap or collagen fistula plug: a comparative study. Dis. Colon. Rectum. 2009 Jan 15;52(1):18-22.
10. Aliev MM. Optimizatsiya lecheniya bolnix ostrim i xronitheskim paraproktitom [avtoreferat]. Stavropol: Stavropolsk. med. un-t; 2008. 124 s. [in Russian].
11. Filips RKS, Vorobyov GP, redactor. Kolorektaliaya hirurgiya. M.: GEOTAR-Media; 2009. 258 s. [in Russian].
12. Kavanagh DO. Dynamic magnetic resonance imaging demonstrates the integrity of perineal reconstruction following cylindrical abdominoperineal excision with reconstruction of the pelvic floor using porcine collagen. Case report med.; 2012. Report 752357.
13. Köckerling F, Alam NN, Narang SK, Daniels IR, Smart NJ. Treatment of Fistula-In-Ano with Fistula Plug a Review Under Special Consideration of the Technique. Front Surg. 2015 Jan 20;16:2-55.
14. Dutta G, Bain J, Ray AK, Dey S, Das N, Das B. Comparing Ksharasutra (Ayurvedic Seton) and open fistulotomy in the management of fistula-in-ano. J. Nat. Sci. Biol. Med. 2015 Feb 11;6(2):406-10.

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ КОЛАГЕНОВОГО ІМПЛАНТАТУ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ПАРАРЕКТАЛЬНИХ НОРИЦЬ

Фелештинський Я. П., Борн Є. Є., Дядик О. О., Григоровська А. В., Козлова К. С.

**Резюме.** Експериментально обґрунтована доцільність закриття дефекту кишкової стінки колагеновим імплантатом. Використані експериментально-морфологічні, гістологічні, імуногістохімічні, мікроскопічні методи. Доведено, що закриття дефекту кишкової стінки колагеновим імплантатом зменшує частоту ранових ускладнень, не викликає зрощень імплантату, забезпечує оптимальне сполучнотканинне проростання імплантату. Інтенсивне утворення власного колагену в ділянці оперативного втручання значно прискорює загоєння рани, знижує імовірність рецидиву захворювання.

**Ключові слова:** колагеновий імплантат, дефект кишкової стінки, сполучна тканина.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОЛЛАГЕНОВОГО ИМПЛАНТАТА ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПАРАРЕКТАЛЬНЫХ СВИЩЕЙ

Фелештинский Я. П., Борн Е. Е., Дядик Е. А., Григоровская А. В., Козлова К. С.

**Резюме.** Экспериментально обоснована целесообразность закрытия дефекта кишечной стенки коллагеновым имплантатом. Используются экспериментально-морфологические, гистологические, иммуногистохимические, микроскопические методики. Доказано, что закрытие дефекта кишечной стенки коллагеновым имплантатом уменьшает частоту раневых осложнений, не вызывает сращение имплантата, обеспечивает оптимальное соединительнотканное прорастание имплантата. Интенсивное образование собственного коллагена в области оперативного вмешательства значительно ускоряет заживление раны, снижает вероятность рецидива заболевания.

**Ключевые слова:** коллагеновый имплантат, дефект кишечной стенки, соединительная ткань.

### EXPERIMENTAL APPROVAL OF THE USE OF COLLAGEN IMPLANTAT IN SURGICAL TREATMENT OF PARAREKTAL FISTULS

Feleshtinsky Ya. P., Born E. E., Dyadik O. O., Grigorovskaya A. V., Kozlova K. S.

**Abstract.** *The aim* of the work is to experimentally substantiate the expediency of closing the defect of the intestinal wall with a collagen implant.

*Object and methods.* The study was conducted on 80 Wistar rats ( $226 \pm 4,6$  g). Depending on the version of the operative animal, they are divided into 2 groups (40 animals). In group I, the closure of the defect of the intestinal wall with a freeze-dried collagen implant was used. In group II – sewing with knot seams. From the experiment, the animals were taken out in accordance with the conditions of efnasias. To evaluate the results, morphological, histological, immunohistochemical, and microscopic methods were used.

*Research results and their discussion.* In group I, on the 14th day, fragments of the intestine wall with abruptly altered structure, areas of stale hemorrhagic infiltration and cells of fibrinoidal necrosis were found. In the intact part of the intestine there are a number of compensatory changes (thickening of the mucous membrane, lengthening villi and deepening of the crypt, accelerating cell migration). The immature connective tissue actively proliferates along the edge of the defect, a fickle appearance due to indirect degradation of damaged structures caused by the activity of the macrophages, and the replacement of the latter by numerous collagen-forming neoplastic fibers. On day 21, the number of fibroblasts is significantly reduced. There are signs of the process of initial epithelization. On the 28th day – the formation of mature connective tissue is completed; granulation tissue is replaced by an organized fibrous tissue with regression of most capillaries and vessels of the microcirculation bed.

*Conclusions.* Using a collagen implant prevents premature resorption, provides robust mechanical stability in the presence of bacterial infection.

**Key words:** collagen implant, defect of the intestinal wall, connective tissue.

*Рецензент – проф. Проніна О. М.*

*Стаття надійшла 27.03.2018 року*