

2. Merritt, K. Tissue colonization from implantable biomaterials with low numbers of bacteria / K. Merritt, V. M. Hitchins, A. R. Neale // J Biomed Mater Res. — 1999. — № 44(3). — P. 261–5.
3. Costa, S. F. Mucosa or skin as source of coagulase-negative staphylococcal bacteraemia? / S. F. Costa, M. H. Miceli, E. J. Anaissie // Lancet Infect Dis. — 2004. — № 4(5). — P. 278–86.
4. Creation of a neo-aortoiliac system from lower extremity deep and superficial veins / G. P. Clagett [et al.] // Ann Surg. — 1993. — № 218. — P. 239.
4. Clagett, G. P. Autogenous aortoiliac/femoral reconstruction from superficial femoral-popliteal veins: feasibility and disability / G. P. Clagett, R. J. Valentine, R. T. Hagino // J. Vasc Surg. — 1997. — № 25. — P. 255.

УДК 616.1:616.9]-092.4

**ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ РАЗЛИЧНЫХ
СОСУДИСТЫХ КОНДУИТОВ В ПРИСУТСТВИИ ИНФЕКЦИИ
В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА**

Лызиков А. А., Ачинович С. Л.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

Учреждение

«Гомельский областной клинический онкологический диспансер»

г. Гомель, Республика Беларусь

Механизм биологической адаптации вен, включенных в артериальный кровоток, к новым гемодинамическим условиям, весьма сложен и, если применительно к «классическим» аутогенным кондуитам эти процессы в достаточной мере изучены [1, 2], то биологические свойства глубоких вен и изменения их при включении в артериальный кровоток представляют широкое поле для изучения.

Реакция на протез у собак наиболее тесно совпадает с таковой у человека, что определило выбор экспериментальных животных.

Поскольку долговременное выживание аутотрансплантата напрямую зависит от степени сохранности его полноценности, то из морфологических исследований нами было выбрано иммуногистохимическое как позволяющее оценить не только структурную целостность, но и функциональную адекватность. Определение степени развитости микроциркуляторного русла перимизия крупных сосудов является одной из таких методик.

Цель

Изучение особенностей микроциркуляторного русла перимизия, функциональные взаимоотношения стенки крупного сосуда и питающего его микроциркуляторного русла.

Материал и методы

Изучалась стенка глубокой вены бедра у 30 беспородных собак, самцов, весом $15,3 \pm 3,7$ кг. 20 из них были инфицированы лабораторным штаммом MRSA путем однократного введения культуры в количестве 10^6 микробных тел внутривенно за 30 минут до операции. Это позволило смоделировать субкультуральную бактериемию, аналогичную имеющейся у пациентов с критической ишемией нижних конечностей с гнойно-некротическими изменениями.

Экспериментальная часть выполнялась на базе патофизиологической группы ЦНИЛ БелМАПО в стандартных условиях вивария. Все собаки были оперированы. Им выполнялось подвздошно-бедренное шунтирование комбинированным кондуитом, состоящим из фрагментов искусственного протеза из политетрафторэтилена (ПТФЭ), бедренной вены и большой подкожной вены. Подобная методика позволяет оценить не только свойства изолированных тканей, но и их взаимодействие в зонах анастомозов.

Материал получали в сроки 3 и 6 месяцев.

Для иммуногистохимического исследования использовалась методика, предложенная R.K. Vartanian с соавторами и S. Svagzdys [3].

Статистическую обработку результатов проводили при помощи компьютерной программы «Statistica» 6.0. Для сравнения величин, не подчиняющихся распределению Гаусса, использовался непараметрический метод сравнения двух независимых выборок — U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

При сравнительном анализе инфицированной и неинфицированной групп в срок 3 месяца мы выяснили, что толщина стенки кондуита была максимальной в случае глубокой вены бедра ($1423,25 \pm 285,78$ мкм и $1348,14 \pm 216,14$ мкм соответственно), а минимальной у искусственного протеза ($1046,65 \pm 144,26$ мкм и $825,15 \pm 134,16$ мкм соответственно), причем это было справедливо для обеих групп.

Площадь ядер эндотелия была в группе неинфицированных собак наибольшей в глубокой вене бедра ($85,5 \pm 9,14$ мкм²), а минимальной — у большой подкожной вены ($58,35 \pm 7,12$ мкм²), тогда как при инфицировании наибольшая активность репаративных процессов наблюдалась в большой подкожной вене ($121,55 \pm 7,26$ мкм²), а минимальная — в искусственном протезе ($115,26 \pm 15,56$ мкм²). Площадь гладкомышечных клеток в обеих группах была максимальной в бедренной вене, а минимальной — в псевдоинтима искусственного протеза, причем инфицирование в наименьшей степени отразилось на бедренной вене.

На этом сроке наблюдений во всех группах наибольшее количество иммунокомпетентных клеток наблюдалось в искусственном протезе ($22,31 \pm 3,24$ лимфоцитов в 10 полях зрения в неинфицированной группе и $24,51 \pm 3,75$ — в инфицированной), а минимальное — в бедренной вене ($14,25 \pm 3,16$ и $16,79 \pm 3,48$ соответственно), причем при инфицировании количество макрофагов вокруг бедренной вены изменилось минимально.

При сравнении обеих групп в срок 6 месяцев мы выявили следующие закономерности: толщина стенки в неинфицированной группе была максимальной у бедренной вены ($1456,59 \pm 266,48$ мкм), а минимальной у протеза ($834,51 \pm 89,15$ мкм), а при инфицировании наибольшая толщина была у искусственного протеза ($1583,61 \pm 267,85$ мкм), а наименьшая — у большой подкожной вены ($1474,81 \pm 264,2$ мкм), что позволяет сделать вывод о бурном росте псевдоинтимы и перипротезной капсулы искусственного кондуита в присутствии инфекции. Площадь ядер эндотелия была максимальной в протезе ($69,58 \pm 7,48$ мкм² в неинфицированной группе и $71,57 \pm 7,98$ мкм² в инфицированной), а минимальной в подкожной вене ($53,55 \pm 4,46$ мкм² и $43,55 \pm 5,45$ мкм² соответственно), причем, в отличие от остальных графтов, интенсивность репаративных процессов в бедренной вене снизилась в присутствии бактерий.

Интенсивность пролиферации эндотелия, оцениваемая по экспрессии по Ki67, также была максимальной в протезе ($2,77 \pm 0,85$ % в неинфицированной группе и $3,57 \pm 0,86$ % в инфицированной), а минимальной в подкожной вене ($4,56 \pm 1,18$ и $4,66 \pm 1,12$ % соответственно). При этом, данный показатель для бедренной вены снизился в инфицированной группе, тогда как в остальных объектах наблюдалось обратное.

Васкуляризация в обеих группах была наибольшей в протезе ($8,99 \pm 3,12$, % от площади стенки сосуда в неинфицированной группе и $9,25 \pm 3,12$ % — в инфицированной) а минимальной в подкожной вене ($4,9 \pm 1,12$ и $6,7 \pm 1,12$ % соответственно).

Площадь гладкой мускулатуры была максимальной в бедренной вене ($39,43 \pm 5,12$ % в неинфицированной группе и $41,35 \pm 5,69$ % в инфицированной), а минимальной — в искусственном протезе ($16,45 \pm 3,92$ и $26,35 \pm 4,24$ % соответственно), причем наибольшая динамика была у протеза, а наименьшая — у бедренной вены.

Наиболее высокое содержание иммунокомпетентных клеток всех определяемых видов во всех группах было вокруг эксплантата ($19,61 \pm 3,84$ клеток в 10 полях зрения в неинфицированной группе и $21,51 \pm 3,99$ клеток — в инфицированной), тогда как минимум

лимфоцитов был зарегистрирован вокруг подкожной вены ($15,15 \pm 3,02$ клеток в 10 полях зрения в неинфицированной группе), а плазмочитов и макрофагов — вокруг бедренной.

Результаты исследования

Результаты исследования через 9 месяцев после имплантации без инфицирования были следующими: толщина стенки искусственного протеза через 9 месяцев была несколько больше, чем через 6 месяцев, но при этом отмечались фиброзные изменения, уменьшение васкуляризации по сравнению с большой подкожной веной и бедренной веной ($p = 0,041$). В то же время были выражены признаки ремоделиции и инволюции новообразованной соединительной ткани по периметру и в порах полимерного искусственного протеза: липоматоз соединительнотканых вкрастаний, истончение капсулы, формирующейся по периферии искусственного протеза, редукция новообразованных капилляров.

По данным исследования через 9 месяцев после имплантации в условиях инфицирования, наиболее оптимальное соотношение между толщиной и васкуляризацией стенки имплантируемых сосудов, количеством гладкомышечных клеток, наличием иммунокомпетентных клеток определялось в бедренной вене. Дистрофические изменения, фиброз и метахромазия сосудистых структур также были менее выражены в бедренной вене по сравнению с искусственным протезом и большой подкожной веной ($p = 0,049$).

При сравнительном анализе исследуемых групп мы выяснили, что в неинфицированной группе наибольшей толщиной обладала большая подкожная вена ($1677,94 \pm 246,5$ мкм), а наименьшей — протез ($1358,68 \pm 165,25$ мкм), в то время как у инфицированных животных самой большой была стенка искусственного протеза ($1785,89 \pm 175,25$ мкм), причем эта разница между группами была максимальной среди сравниваемых кондуитов, а наименьшей толщиной обладала бедренная вена ($1658,25 \pm 74,18$ мкм).

Наибольшей пролиферативной активностью, судя по площади ядер эндотелия на этом сроке среди всех групп обладала подкожная вена, тогда как среди неинфицированной группы наименьшее значение этого показателя было у протеза ($105,16 \pm 14,46$ мкм²), а в инфицированной — у бедренной вены ($119,5 \pm 9,45$ мкм²).

При оценке пролиферации по Ki67 максимальные значения были у инфицированного протеза, причем обращает на себя внимание тот факт, что разница значений для него между группами была около 3 раз, тогда как для большой подкожной вены этот показатель практически не изменился, а для бедренной вены вследствие инфицирования он снизился.

Наибольшая площадь лейомиоцитов была в бедренной вене, наименьшая — в протезе, причем примечательно, что наибольшее увеличение площади в связи с инфицированием отмечалось у бедренной вены.

В обеих группах все определяемые в ходе исследования иммунокомпетентные клетки наиболее тесно скапливались вокруг искусственного протеза, а наименьшее их количество было зарегистрировано в бедренной вене, причем для протеза была отмечена наибольшая разница в содержании лимфоцитов у инфицированных и неинфицированных животных.

Через 12 месяцев после имплантации без инфицирования толщина стенки искусственного протеза была несколько меньше, чем через 9 месяцев ($p = 0,034$), при этом определялись фиброзные изменения, уменьшение васкуляризации по сравнению с большой подкожной веной и бедренной веной ($p = 0,023$). Количество иммунокомпетентных клеток в мезенхимально-стромальном компоненте искусственного протеза, большой подкожной вены и бедренной вены через 12 месяцев после имплантации в условиях инфицирования было наименьшим среди всех сроков ($p = 0,049$). Максимальная толщина стенки была у бедренной вены, минимальная — у искусственного протеза, при этом примечательно, что для всех тканей на этом сроке при инфицировании толщина была меньше, чем без него.

Максимальная пролиферативная активность эндотелия при оценке по площади ядер эндотелия была во всех группах у бедренной вены, а минимальной — у искусственного протеза. При оценке этого параметра по Ki 67 были получены аналогичные заключения, причем достоверное значительное увеличение при межгрупповом сравнении значений существовало только для протеза.

Наибольшая васкуляризация отмечалась у бедренной вены, а минимальная — у искусственного протеза, причем обращает на себя внимание тот факт, что при инфицировании васкуляризация протеза увеличилась, а бедренной вены уменьшилась. Повидимому, это свидетельствует о затихании иммунного ответа в случае бедренной вены и об его всплеске в случае с эксплантатом.

Площадь гладких миоцитов была наибольшей в бедренной вене, наименьшей — в искусственном протезе. Примечательно, что гладкая мускулатура в инфицированном протезе была впервые за время наблюдения меньше выражена, чем в неинфицированном, что может свидетельствовать о более раннем начале дегенерации псевдоинтимы вследствие инфицирования.

Максимальное содержание иммунокомпетентных клеток наблюдалось вокруг инфицированного протеза, а минимум во всех группах — вокруг бедренной вены, причем лимфоцитов вокруг нее при инфицировании было существенно больше, в отличие от плазмочитов и макрофагов.

Заключение

Сравнительный анализ динамики морфо-функциональных изменений при включении в артериальный кровоток различных видов кондуитов показал:

1. Максимальная толщина стенки кондуитов во всех случаях определялась в срок 9 месяцев, после чего наступала инволюция. При этом наиболее стабильное поведение с наименьшей динамикой независимо от присутствия инфекции продемонстрировала бедренная вена, тогда как подкожная вена и искусственный протез вели себя сходно: при отсутствии инфекции толщина стенки обоих кондуитов оставалась практически неизменной, после чего наступало увеличение этого параметра к 9 месяцам, сопровождающееся уменьшением толщины к году после имплантации, в то время как при наличии инфекционного агента толщина как протеза, так и подкожной вены постоянно росла.

2. Площадь гладкомышечной мускулатуры незначительно увеличивалась в случае неинфицированных подкожной вены и искусственного протеза, у всех остальных изучаемых кондуитов с течением времени толщина мышечной оболочки уменьшалась.

3. Васкуляризация в процентном отношении к стенке сосуда увеличивалась до 6 месяцев, после чего к 9 месяцам наступал спад, который в последствии сменялся ростом. Спад в срок 9 месяцев, по всей видимости, происходил из-за более быстрого роста невакуляризованных структур сосудистой стенки, приводивших к пику толщины сосудов в этом сроке. Количество иммунно-компетентных клеток в случае протеза и неинфицированных аутотрансплантатов постепенно снижалось на всем сроке наблюдения, тогда как при инфицировании аутотрансплантатов лимфоцитарная инфильтрация усиливается, причем это наиболее выражено в срок с 9 до 12 месяцев.

4. Динамика экспрессии протеина Ki-67 в клетках эндотелия аналогична динамике количества лимфоцитов.

5. Площадь ядер эндотелия снижается с момента имплантации к 6 месяцам, после чего следует рост к 9 месяцам, за которым следует плавный спад. Увеличение площади к 9 месяцам совпадает с пиком роста толщины стенки изучаемых кондуитов.

Таким образом, наиболее рискованным с точки зрения развития осложнений, связанных с гиперплазией интимы, является срок 9 месяцев после имплантации, после чего риск уменьшается. Бедренная вена наименее склонна к гиперплазии интимы и свя-

занным с этим осложнениями, тогда как риск гиперплазии для неинфицированных подкожной вены и протеза возникает резко в срок 9 месяцев.

Вероятно, разрастание интимы к 9 месяцам в сочетании с ухудшением васкуляризации может приводить к нарушению функционирования эндотелия и, в частности, к депрессии выработки антитромбогенных факторов, что, в сочетании с уменьшением диаметра просвета, увеличивает вероятность тромбозов. Однако это соображение в части, касающейся факторов эндотелия, требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. In situ revascularization with silver-coated polyester grafts to treat aortic infection: early and midterm results / M. Bast [et al.] // J. Vasc. Surg. — 2003. — Vol. 38. — P. 983.
2. Allograft replacement for intrarenal aortic graft infection: early and late results in 179 patients / E. Kieffer [et al.] // J. Vasc. Surg. — 2004. — Vol. 39. — P. 1009.
3. Microvessel density as new prognostic marker after radiotherapy in rectal cancer / S. Svagzdys [et al.] // B. M. J. Cancer. — 2009. — Vol. 9. — P 1471–1477.

УДК 616.36:611.018-004

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Лызиков А. Н., Скуратов А. Г., Призенцов А. А., Осипов Б. Б.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Портальная гипертензия (ПГ) остается одним из наиболее сложных и нерешенных вопросов частной хирургии, а кровотечение из варикозных вен пищевода и кардии является одной из основных причин смерти больных с синдромом портальной гипертензии. Летальность при этом достигает 25–72 % [1, 2]. Для изучения сложных патофизиологических нарушений, развивающихся при ПГ, используются различные экспериментальные модели, которые позволяют дать комплексную оценку и разработать методы адекватной коррекции патологических процессов ПГ, что не всегда возможно в клинических исследованиях [3].

Цель

Представить способы моделирования портальной гипертензии и отработать экспериментальную модель внутрипеченочной формы портальной гипертензии.

Материалы и методы

Выбор способа моделирования ПГ во многом зависит от цели исследования [4, 5].

Для развития внепеченочной ПГ наиболее распространенной моделью является частичное лигирование воротной вены. Она широко используется для изучения гемодинамических нарушений, характерных для ПГ, и главным образом применяется на крысах, реже — на мышах, кроликах, собаках. Воротную вену, выделенную из окружающих тканей, перевязывают шелковой лигатурой (3–0) на тупоконечной игле 16, 18 или 20 калибра, лежащей вдоль ее поверхности. Для повышения эффективности метода предлагается перевязывать воротную вену на протяжении трех равноудаленных участков. После извлечения иглы степень стеноза соответствует ее калибру.

Моделирование внутрипеченочной ПГ. Внутрипеченочная ПГ классифицируется как пресинусоидальная, синусоидальная и постсинусоидальная.

Одним из заболеваний, приводящих к пресинусоидальной внутрипеченочную ПГ, является шистосомоз. Модель заключается в инъекции церкарий паразита в стенку живота экспериментальным животным (чаще мышам и хомякам). ПГ развивается через 5–7 нед после инокуляции с формированием портосистемных шунтов к 9-й неделе. Пре-