

КІЛЬКІСНИЙ МОРФОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ОСОБЛИВОСТЕЙ РЕМОДЕЛЮВАННЯ ВЕНОЗНОГО РУСЛА НИЖНЬОЇ КІНЦІВКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ РАНАХ

©М. С. Гнатюк, М. Ю. Кріцак, М. Аль Джехані Наїф Абдулела

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

РЕЗЮМЕ. Мета – дослідити особливості ремоделювання венозного русла нижньої кінцівки при перебігу експериментальних ран в умовах венозної гіпертензії.

Матеріал і методи. Досліджено венозне русло нижньої кінцівки 45 білих щурів, які були поділені на 3 три групи. 1 група контрольна – 15 інтактних тварин, 2 – 15 щурів із 10-денною змодельованою раною задньої кінцівки та венозною гіпертензією, 3 – 15 тварин з аналогічною 14-денною раною. Евтаназію тварин здійснювали кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу. На мікропрепаратах задньої кінцівки визначали зовнішній та внутрішній діаметри венозних судин, товщину їх стінки, висоту ендотеліоцитів, діаметр їх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення у цих клітинах, відносний об'єм ушкоджених ендотеліоцитів. Кількісні величини обробляли статистично.

Результати. Встановлено, що змодельована патологія призводила до вираженої структурної перебудови вен нижньої кінцівки експериментальних тварин. При змодельованій патології відбувалося збільшення зовнішнього та внутрішнього діаметрів вен, зменшення товщини їх стінок, порушення клітинного структурного гомеостазу в ендотеліоцитах, зростання відносних об'ємів пошкоджених ендотеліоцитів, повнокров'я венозних судин, порушення венозного дренажу, дистрофічні, некробіотичні, інфільтративні та склеротичні процеси у досліджуваній кінцівці, які домінували на 14 день експерименту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальна рана; нижня кінцівка; венозне русло.

Вступ. Сьогодні спостерігається збільшення кількості хворих з рановою патологією, яка була і залишається важливою проблемою сучасної медицини. Остання прагне створення найменш травматичних і високотехнологічних методів лікування, що здійснюються без госпіталізації пацієнта або в стаціонарі одного дня, що призводить до розвитку цілого напрямку нових технологій, що потребує розробки інноваційних та вдосконалення наявних методів лікування в хірургічній практиці.

Особливо складним є хірургічне лікування гнійно-некротичних уражень нижніх кінцівок у хворих на цукровий діабет, хронічний алкоголізм, наркоманію, при дії на організм різних негативних факторів довкілля, що залишається актуальною і не до кінця вирішеною проблемою. Розвиток сучасних методів обстеження та удосконалення методик оперативних втручань дозволяють в більшості випадків виконувати радикальні хірургічні обробки у пацієнтів, які спрямовані на збереження нижньої кінцівки та її опорної функції. Але виконання таких хірургічних операцій призводить до формування великих ранових дефектів, які в умовах метаболічних порушень та спотвореного ранового процесу часто формують хронічні рани (трофічні виразки). Велика площа ран створює несприятливі умови для самостійного загоєння, що потребує вирішення питання про методи впливу на рановий процес.

Незважаючи на значний досвід та постійні наукові дослідження з розробки сучасних методів, лікування ран залишається однією з актуальних

проблем хірургії. Результати спостережень засвідчують, що найефективніші сучасні лікарські засоби при їх застосуванні поступово втрачають ефективність і потребують вдосконалення методів впливу на рановий процес в різні фази загоєння рани. Наведене свідчить, що тільки детальне та об'єктивне знання патоморфогенезу ранового процесу дозволить знайти найоптимальніші медикаментозні та немедикаментозні методи впливу для пришвидшення його перебігу та зменшення різних ускладнень.

Відомо, що повноцінний дренаж венозної крові при локальних пораненнях має позитивний вплив на їх перебіг [3, 5]. В той же час варто зазначити, що венозні судини при ранах нижньої кінцівки досліджені недостатньо.

Мета роботи – дослідити особливості ремоделювання венозного русла нижньої кінцівки при перебігу експериментальних ран в умовах венозної гіпертензії.

Матеріал і методи дослідження. Робота виконана на 45 лабораторних статевозрілих щурах-самцях масою 195–200 г, які були поділені на три групи. 1 група контрольна – 15 інтактних тварин, 2 – 15 щурів із 10-денною змодельованою раною задньої кінцівки, 3 – 15 тварин з аналогічною 14-денною раною. Моделювання ранового дефекту проводили наступним чином. По латеральній поверхні стегна за допомогою станка для гоління кінцівка звільнялась від шерсті. Формування рани проводилось під тіопенталовим знеболюванням у дозі 40 мг/кг маси тварини. За допомогою скальпе-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

ля та хірургічних ножиць видаляли шкірний клапоть з поверхневою фасцією розміром 2×2 см, дно рани додатково травмувалось скальпелем, методом створення насічок у поздовжньому та поперечному напрямках з метою створення некрозу в рані. Для запобігання крайовій епітелізації та швидкій контракції рани по периметру дефект обшивали безперервним обвивним швом капроновою ниткою 5.0, фіксуючи край рани до фасції та м'язів. Венозну гіпертензію формували шляхом перев'язки стегової вени нижче пахової зв'язки. Евтаназію тварин здійснювали кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу.

Вирізані шматочки м'яких тканин нижньої кінцівки з раною фіксували в розчині Буена, проводили через етилові спирти зростаючої концентрації та поміщали в парафінові блоки. Мікротомні зрізи товщиною 5–6 мкм після депарафінізації забарвлювали гематоксиліном і еозином, за ван-Гізона, Маллорі, Массоном, толуїдиновим синім [2]. Морфометрично визначали зовнішній (ДЗВС) та внутрішній (ДВВС) діаметри венозних судин, товщину (ТСВС), висоту ендотеліоцитів (ВЕ), діаметр їх ядер (ДЯ), ядерно-цитоплазматичні відношення (ЯЦВ) у цих клітинах, відносний об'єм ушкоджених ендотеліоцитів (ВОПЕН) [4, 5]. У кожному мікропрепараті здійснювали 50 вимірів. Морфометрію проводили за допомогою світлового мікроскопа "Olimpus VX-2" з цифровою відеокамерою та пакетом прикладних програм "Відео Тест 5,0" та "Відео розмір 5,0".

Кількісні величини обробляли статистично. Обробка результатів виконана у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Гор-

бачевського МОЗ України у програмному пакеті "StatsoftStatistica" (ліцензія№BXXR303F737429FA-8). Достовірність різниці між порівнювальними кількісними морфологічними характеристиками визначали за критерієм Стьюдента [6, 9].

Усі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили з дотриманням загальноприйнятих біотичних норм гуманного поводження з лабораторними тваринами у відповідності до міжнародних та національних положень стосовно проведення експериментів із залученням тварин: «Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальні етичні принципи проведення експериментів на тваринах» (Україна, 2001), Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-1У (Україна, 2006) [7].

Результати й обговорення. Отримані морфометричні параметри досліджуваних венозних судин задньої кінцівки із змодельованою раною показані в таблиці 1. Усестороннім аналізом кількісних морфологічних показників венозних судин виявлено, що при змодельованій 10-денній рані задньої кінцівки вони структурно змінювалися. Так, зовнішній діаметр досліджуваних судин в умовах змодельованої рани збільшився з $(40,60 \pm 0,39)$ мкм до $(45,30 \pm 0,36)$ мкм. Наведені кількісні морфологічні показники статистично достовірно ($p < 0,001$) відрізнялися між собою. При цьому останній морфологічний параметр відрізнявся від попереднього на 11,6 %. При 14-денній експериментальній рані встановлене зростання зовнішнього діаметра венозних судин дорівнювало 13,0 % ($p < 0,001$).

Таблиця 1. Морфометрична характеристика венозних судин нижньої кінцівки експериментальних тварин ($M \pm m$)

Показник	Група спостереження		
	1	2	3
ДЗВС, мкм	40,60±0,39	45,30±0,36***	45,90±0,36***
ДВВС, мкм	28,50±0,21	35,90±0,22***	36,60±0,30***
ТСВС, мкм	12,10±0,11	9,40±0,12***	9,30±0,12***
ВЕ, мкм	4,90±0,03	4,48±0,03***	4,45±0,03***
ДЯЕ, мкм	3,50±0,02	3,32±0,02**	3,33±0,02**
ЯЦВ	0,510±0,003	0,550±0,003***	0,560±0,003***
ВОПЕН, %	2,40±0,03	25,70±0,18***	28,50±0,21***

Примітки. ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з 1-ю групою спостережень.

Внутрішній діаметр досліджуваних судин при 10-денній досліджуваній патології статистично достовірно ($p < 0,001$) зріс на 25,9 %, при 14-денній рані – на 28,4 % ($p < 0,001$). Аналізом отриманих морфометричних параметрів встановлено, що товщина венозної стінки при змодельованому експерименті виражено зменшувалася. Так, у

контрольних спостереженнях вказаний морфометричний параметр досягав $(12,10 \pm 0,11)$ мкм, при десятиденній експериментальній рані – $(9,40 \pm 0,12)$ мкм. Між наведеними кількісними морфологічними параметрами виявлена виражена статистично достовірна ($p < 0,001$) різниця. При цьому останній морфометричний параметр вия-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення вився меншим за попередній на 22,3 %. При 14-денній змодельованій рані встановлене аналогічне зменшення товщини венозної стінки задньої кінцівки дорівнювало на 23,1 % ($p < 0,001$).

В умовах експериментальної рани задніх кінцівок досліджувалися також морфометричні параметри ендотеліоцитів венозних судин. Встановлено, що висота ендотеліоцитів венозних судин задньої кінцівки у контрольних спостереженнях дорівнювала ($4,90 \pm 0,03$) мкм, а при 10-денній рані – ($4,48 \pm 0,03$) мкм. Останній морфометричний параметр з вираженою статистично достовірною різницею ($p < 0,001$) відрізнявся від попереднього і був меншим, порівняно з ним, на 8,6 %. При 14-денній експериментальній рані виявлена різниця між кількісними морфологічними показниками була більш вираженою і дорівнювала 9,2 % ($p < 0,001$). Діаметри ядер ендотеліоцитів у змодельованих експериментальних умовах змінювалися меншою мірою. Так, при 10-денній експериментальній рані діаметр ядер ендотеліоцитів статистично достовірно ($p < 0,01$) зменшився на 5,1 %, при 14-денному рановому дефекті – на 4,8 % ($p < 0,01$).

Нерівномірні диспропорційні зміни розмірів ядра та цитоплазми ендотеліоцитів призводили до порушень ядерно-цитоплазматичні відношення у досліджуваних клітинах. В умовах 10-денної змодельованої рани задньої кінцівки вказаний морфометричний параметр з вираженою статистично достовірною різницею ($p < 0,001$) зріс на 7,8 %, при 14-денному експерименті – на 9,8 % ($p < 0,001$). Виявлене свідчило про пошкодження ендотеліоцитів венозних судин та порушення структурного клітинного гомеостазу. Деякі дослідники вказують, що вивчення ядерно-цитоплазматичних співвідношень є глибоким та об'єктивним аналізом взаємозв'язків між ядром і цитоплазмою клітин, порівняно з ізольованим вивченням вказаних клітин, а ядерно-цитоплазматичні відношення є інформативним та об'єктивним критерієм прижиттєвого стану клітини.

Відносний об'єм ушкоджених ендотеліоцитів венозних судин задньої кінцівки у досліджуваних умовах експерименту з виражено змінювався. Так, при 10-денній змодельованій рані задньої кінцівки відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів венозних судин зріс у 10,7 раза ($p < 0,001$), при 14-денній змодельованій патології – у 11,8 раза ($p < 0,001$).

Відомо, що ендотеліоцити продукують різні біологічно активні субстанції, необхідні для регуляції життєво важливих процесів організму. Вказані клітини впливають репаративну функцію та відіграють важливу роль у ремоделюванні судинної стінки, тобто в змінах її структури та функції у різних фізіологічних і патологічних умовах. Важ-

ливою функцією ендотеліоцитів є синтез вазоконстрикторних субстанцій (ендотелін, ангіотензин-2, тромбоксан, простагландин-3 та вазодилаторів, серед яких основним є оксид азоту (NO). Пошкодження значної кількості ендотеліоцитів призводить до їх дисфункції, зменшення синтезу NO, посилення продукції вазоконстрикторів. Порушення рівноваги між вазодилаторами та вазоконстрикторами призводить до посилення спазму, звуження переважно артеріальних судин, що суттєво погіршує кровопостачання органів, сприяє дилатації венозних судин, застою венозної крові, супроводжується та посилює гіпоксію [2, 4]. Остання призводить до дистрофічно-некробіотичних змін клітин, тканин, інфільтрації та склерозування.

При світлооптичному вивченні мікропрепаратів задньої кінцівки з експериментальною раною у 2-й та 3-й групах спостережень виявлено виражені судинні розлади (повнокров'я переважно венозних судин, явища перивазального набряку, стази у венозній частині мікрогемодинамічного русла, осередки діapedезних крововиливів), дистрофічні, некробіотичні зміни епітеліоцитів, міоцитів, ендотеліоцитів, стромальних структур, інфільтративні та склеротичні процеси. У деяких венах спостерігалися осередки з проліферацією ендотеліоцитів, що свідчило про наявність вираженої гіпоксії. В ядрах вказаних клітин виявлявся гіпохроматоз, пікноз та осередки лізису. Траплялися осередки, де відмічалися нечіткі контури стінок вен, у них відмічалися чергування набряклих та склеротичних вогнищ, а також гіпертрофованих та стоншених ділянок. Варто зазначити, що порушення венозного відтоку, депонування крові у венах супроводжується зростанням опору її руху, що призводить до гіпертрофії м'язової оболонки не тільки артерій і артерій, але і деяких вен, що мало місце у наших спостереженнях. Ці явища відображають вено-артеріальну реакцію, яка направлена на збереження повноцінної мікроциркуляції у досліджуваному органі. Контури вен з нерівномірним просвітом, звивисті, покручені, їх звужені осередки з гіалінізованими стінками інколи чергувалися з розширеними ділянками. Наведене свідчить, що змодельований експериментальний патологічний процес призводить до вираженої структурної перебудови всього венозного русла задньої кінцівки, тобто до структурно-функціональних змін всіх ланок її венозної дренажної системи. Пошкодження значної кількості ендотеліоцитів призводило до ендотеліальної дисфункції і посилювало гіпоксію. Виявлені структурні зміни були більш вираженими при 14-денній змодельованій рані. Наведене підтверджувалося динамікою морфометричних параметрів венозного русла задньої кінцівки у досліджува-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення
них експериментальних умовах. Отримані результати проведеного дослідження свідчать, що поліпшення дренажу венозної крові покращить перебіг ранового процесу та регенераторних процесів.

Висновки. Змодельована рана задньої кінцівки призводить до значного ремоделювання її венозного русла, яке характеризується вираженим розширенням та повнокров'ям венозних судин, порушенням їх венозної дренажної функції, дистрофічними, некробіотичними, інфільтратив-

ними та склеротичними процесами у досліджуваній кінцівці. Вираження структурних змін венозного русла задньої кінцівки при змодельованому рановому процесі залежало від його тривалості.

Перспективи подальших досліджень. Морфологічне та кількісне дослідження закономірностей структурної перебудови венозних судин нижніх кінцівок в умовах тривалого ранового процесу дозволить істотно розширити діагностику, корекцію та профілактику даної патології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аксьонов Є. В. Ендотеліальна дисфункція та шляхи її профілактики при проведенні рентгенендоваскулярних процедур по реканалізації коронарних артерій / Є. В. Аксьонов // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2019. – № 5 (21). – С. 105–108.
2. Методики морфологічних досліджень / М. М. Багрій, В. А. Діброва, О. Г. Попадинець, І. М. Гришук. – Вінниця: Нова книга, 2016. – 238 с.
3. Байбаков В. М. Морфологічні зміни венозного русла як ланки дренажної системи яєчка при травмуванні судинних анастомозів сім'яного канатика в експерименті / В. М. Байбаков // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 32–35.
4. Гнатюк М. С. Особливості структурної перебудови артерій язика при десквамативному глоситі / М. С. Гнатюк, І. В. Боднарчук, Л. В. Татарчук // Вісник наукових досліджень. – 2019. – № 2. – С. 85–89.
5. Особливості ремоделювання венозних судин шлуночків серця при пострезекційній порталній гіпер-

тензії / М. С. Гнатюк, Н. М. Гданська, Л. В. Татарчук, О. Б. Ясіновський // Вісник проблем біології і медицини. – 2021. – Вип. 2 (160). – С. 206–208.

6. Гржибовский А. И. Сравнение количественных данных двух парных выборок с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS: параметрические и непараметрические критерии / А. И. Гржибовский, О. В. Иванов, М. А. Горбатова // Наука и здравоохранение. – 2016. – Т. 3. – С. 5–25.

7. Запорожан В. М. Біоетика та біобезпека / В. М. Запорожан, М. Л. Аряев. – Київ: Здоров'я, 2013. – 456 с.

8. Малярская Н. В. Ендотеліальна дисфункція як універсальний предиктор розвитку серцево-судинної патології та можливості її корекції в практиці сімейного лікаря / Н. В. Малярская, М. А. Калініченко // Ліки України. – 2017. – № 1 (207). – С. 38–41.

9. Festing M. The design and statistical analysis of animal experiments introduction to this issue / M. Festing, T. Nevalainen // Ilar. J. – 2014. – Vol. 55 (3). – P. 379–372.

REFERENCES

1. Aksionov, Ye.V. (2019). Endotelialna dysfunktsiya ta shlyakhy yiyi profilaktyky pry provedenni renthenendovaskulyarnykh protsedur po rekanalizatsiyi koronarnykh arteriy [Endothelial dysfunction and ways of its prevention during X-ray endovascular procedures for recanalization of coronary arteries]. *Ukrayinskyy zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu – Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*, 5(21), 105-108 [in Ukrainian].
2. Bahrii, M.M., Dibrova, V.A., Popadynets, O.H., & Hryshchuk, M.I. (2016). *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen [Methods of morphological research]*. Vinnytsia: Nova knyha [in Ukrainian].
3. Baibakov, V.M. (2011). Morfofunktsionalni zminy venoznoho rusla yak lanky drenaznoi systemy yaiechka pry travmuvanni sudynnykh anastomoziv simianoho kanatyka v eksperymenty [Morphofunctional changes of the venous bed as a link of the drainage system of the testis in case of trauma to the vascular anastomoses of the spermatic cord in the experiment]. *Klinichna anatomiia ta operatyvna khirurhiia – Clinucal Anatomy and Operative Surgery*, 10 (4), 32-35 [in Ukrainian].
4. Hnatiuk, M.S., Bodnarchuk, I.V., & Tatarchuk, L.V. (2019). Osoblyvosti strukturnoyi perebudovy arteriy yazyka pry deskvamatyvnomu hlosyti [Peculiarities of structural rearrangement of the arteries of the tongue in desqu-

amative glossitis]. *Visnyk naukovykh doslidzhen – Bulletin of Scientific Research*, 2, 85-89 [in Ukrainian].

5. Hnatiuk, M.S., Hdanska, N. M., Tatarchuk, L.V., & Yasinovskyi, O.B. (2021). Osoblyvosti remodeliuvannia venoznykh sudyn shlunochkiv sertsia pry postrezektsiinii portalnii hipertenzii [Peculiarities of remodeling of venous vessels of heart ventricles in post-resection portal hypertension]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny – Herald of Problems of Biology and Medicine*, 2(160), 206-208 [in Ukrainian].

6. Grzybowski, A.I., Ivanov, O.B., & Gorbatova, M.A. (2016). Sravneniye kolichestvennykh dannykh dvukh parnykh vyborok s ispolzovaniem programmogo obespecheniya Statistica i SPSS: parametricheskiye i neparametricheskiye kriterii [Comparison of quantitative data of two pair samples using Statistica and SPSS software: parametric and nonparametric criteria]. *Nauka i Zdravoooh. – Science and Health Care*, 3, 5-25 [in Ukrainian].

7. Zaporozhyan, V.M., & Aryaev, M.L. (2013). *Bioetyka ta biobezpeka [Bioethics and biosafety]*. Kyiv: Zdorovia [in Ukrainian].

8. Malyarskay, N.V., & Kalinichenko, M.A. (2017). Endotelialna dysfunktsiya yak universalny predyktor rozvytku sertsevo-sudynnoyi patolohiyi ta mozhlyvosti yiyi korektsiyi v praktytsi simeynoho likarya [Endothelial dysfunction as a universal predictor of the development of cardio-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення
vascular pathology and the possibility of its correction in the practice of a family doctor]. *Liky Ukrainy – Drugs of Ukraine*, 1(207), 38-41 [in Ukrainian].
9. Festing, M., & Nevalainen, T. (2014). The design and statistical analysis of animal experiments introduction to this issue. *Ilar J.*, 55(3) 379-372.

QUANTITATIVE MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF THE FEATURES OF REMODELING OF THE VENOUS BED OF THE LOWER EXTREMITY AT EXPERIMENTAL WOUNDS

©M. S. Hnatiuk, M. Yu. Kritsak, M. Aljehani Naif Abdulelah

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

SUMMARY. The aim – to investigate the peculiarities of the remodeling of the venous bed of the lower extremity at of experimental wounds in conditions of venous hypertension.

Material and Methods. The venous bed of the lower extremity of 45 white rats, which were divided into 3 groups, was studied. The 1 control group – 15 intact animals, the 2nd – 15 rats with a 10-day simulated wound of the hind limb and venous hypertension, the 3rd – 15 animals with a similar 14-day wound. Animals were euthanized by bloodletting under thiopental anesthesia. The outer and inner diameters of venous vessels, the thickness of their walls, the height of endotheliocytes, the diameter of their nuclei, the nuclear-cytoplasmic ratio in these cells, and the relative volume of damaged endotheliocytes were determined on micropreparations of the lower limb. Quantitative values were processed statistically.

Results. It was established that the simulated pathology led to a pronounced structural rearrangement of the veins of the lower limbs of the experimental animals. An increase in the outer and inner diameters of the veins was found in the simulated pathology. a decrease in the thickness of their walls, a violation of cellular structural homeostasis in endotheliocytes, an increase in the relative volumes of damaged endotheliocytes, congestion of venous vessels, a violation of venous drainage, dystrophic, necrobiotic, infiltrative, and sclerotic processes in the studied limb, which dominated on the 14th day of the experiment.

KEY WORDS: experimental wound; lower extremity; venous bed.

Отримано 20.03.2023

Електронна адреса для листування: hnatiuk@tdmu.edu. ua