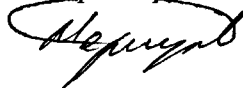


На правах рукописи



Меркулов Александр Васильевич

**ДИНАМИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
КРОВИ И РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В СТЕНКЕ
МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ
РАССАСЫВАЮЩИХСЯ ШОВНЫХ МАТЕРИАЛОВ
ПОСЛЕ ЦИСТОТОМИИ У ЖИВОТНЫХ**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных
16.00.05 – ветеринарная хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ставрополь – 2006

Диссертация выполнена в ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук, доцент
Квочко Андрей Николаевич

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, доцент
Лапина Татьяна Ивановна

доктор ветеринарных наук, доцент
Тарасенко Павел Александрович

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Кубанский государственный
аграрный университет»

Защита диссертации состоится « 14 » апреля 2006 г. в 10 ча-
сов на заседании диссертационного совета Д220.062.02 при ФГОУ ВПО
Ставропольском государственном аграрном университете
(355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет».

Автореферат разослан « 13 » марта 2006 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Квочко А.Н.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. В последнее время в ветеринарной медицине значительно вырос объем хирургических вмешательств на органах мочевого пузыря, что обусловлено широким распространением заболеваний этой системы.

Оперативное вмешательство очень часто является единственным радикальным методом в лечении ряда патологий мочевого пузыря.

Агрессивность и токсичность мочи предъявляет особые требования к типу швов, а следовательно, и к шовному материалу, который используется при закрытии дефекта раны мочевого пузыря.

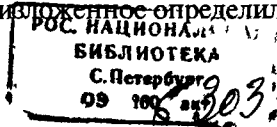
По мнению ряда исследователей (А.А. Вольф, 1981; А.А. Бондарев, 1995; В.А. Черванев, Л.П. Трояновская, С.О. Стрыгина, 1998; П.А. Тарасенко, 1999, 2005; Н.Г. Цветикова, 1999; Н.А. Тонких, 2001; Т.М. Емельянова, 2004), успех при операциях на внутренних органах во многом зависит от вида и качества хирургического шовного материала, которые существенно влияют на течение регенеративных процессов.

Несмотря на успехи оперативной урологии, до настоящего времени многие вопросы регенерации в стенке мочевого пузыря остаются малоизученными.

В литературе практически нет сведений о функциональном состоянии клеток переходного эпителия мочевого пузыря мелких домашних животных при ушивании его стенки различными шовными материалами. Это может быть достигнуто путем изучения параметров активности зон ядрышковых организаторов (AgNORs), которые располагаются на коротком плече акроцентричных хромосом и обеспечивают синтез 18S- и 28S- классов рибосомальной РНК и соответственно белка (В.И. Турилова с соавт., 1998; В.С. Боташева, 2000; Н.М. Владимирова, 2000; А.Н. Квочко, 2002; А.В. Ермолаева, 2005; V. Sirri et al., 2000). Но у собак в норме и при применении рассасывающихся шовных материалов такие исследования не проводились.

В связи с этим возникает необходимость проведения экспериментальных исследований с использованием клинко-морфологических методов для изыскания, изучения и апробации шовных материалов, отвечающих требованиям ветеринарной хирургии.

Решение этих вопросов представляет практический интерес не только в хирургии мелких непродуктивных животных, но и непосредственно в оперативной урологии. Все вышесказанное определило цель и задачи исследования.



1.2. Цель и задачи. Основной целью наших исследований являлось изыскание наиболее эффективного рассасывающегося шовного материала для проведения цистотомии у собак.

В соответствии с этим перед нами были поставлены конкретные задачи:

1. Изучить влияние рассасывающихся шовных материалов (кетгут, викрил, аллоплант) на динамику морфофункциональных показателей крови после цистотомии.
2. Определить в динамике иммунологические параметры организма животных после применения кетгута, викрила и аллопланта для ушивания раны мочевого пузыря.
3. Оценить регенеративную способность стенки мочевого пузыря после цистотомии с применением рассасывающихся шовных материалов.
4. Изучить параметры активности зон ядрышковых организаторов клеток переходного эпителия слизистой оболочки мочевого пузыря в норме и после цистотомии с использованием для ушивания раны кетгута, викрила и аллопланта.

1.3. Научная новизна. Впервые испытан на лабораторных животных и применен при цистотомии у собак биоматериала аллоплант. Представлены новые данные по морфофункциональным и иммунологическим показателям крови крыс и собак в разные сроки после цистотомии с использованием для ушивания раны мочевого пузыря кетгута, викрила и аллопланта. Описаны морфологические изменения и дана сравнительная оценка регенеративных процессов в тканях стенки мочевого пузыря у мелких домашних животных после цистотомии с использованием для ушивания раны рассасывающихся шовных материалов различного происхождения. По параметрам активности зон ядрышковых организаторов (AgNORs) впервые представлены сведения о функциональном состоянии клеток переходного эпителия мочевого пузыря у крыс и собак в норме и при ушивании его стенки различными рассасывающимися шовными материалами.

1.4. Теоретическая и практическая значимость работы. В результате комплексных исследований получены теоретические и практические данные об ответной реакции организма крыс и собак на имплантацию нити кетгута, викрила и аллопланта при цистотомии. Обоснованы возможности применения в ветеринарной практике нити аллопланта для ушивания операционной раны мочевого пузыря. Данные по морфо-

функциональным и иммунологическими показателям крови животных в разные сроки после цистотомии и использования кетгута, викрила и аллопланта, а также по параметрам активности зон ядрышкового организатора переходного эпителия мочевого пузыря целесообразно использовать при составлении руководств, учебных и справочных пособий по морфологии, патофизиологии и ветеринарной хирургии.

1.5. Реализация результатов исследований. Основные результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе Ставропольского ГАУ за 2003–2006 гг.

Материалы исследований используются при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий, научных исследований в Ставропольском, Воронежском, Донском, Кубанском и Орловском государственных аграрных университетах, в Ижевской, Ивановской и Брянской государственных сельскохозяйственных академиях, в Ставропольском и Брянском государственных университетах, в Смоленской государственной медицинской академии. Приняты к внедрению в лечебную и исследовательскую работу в ветеринарных клиниках города Ставрополя и Таганрога.

1.6. Апробация работы. Основные положения диссертации доложены, обсуждены и получили положительную оценку на научных конференциях профессорско-преподавательского состава ФГОУ ВПО «Ставропольский ГАУ» (2004, 2005 гг.), на международной научно-практической конференции в Вятской ГСХА (2005 г.).

1.7. Публикации. По материалам диссертации опубликованы 5 научных работ.

1.8. Основные положения, выносимые на защиту:

1. Динамика морфофункциональных показателей и иммунологического статуса после цистотомии у крыс и собак зависит от применяемого шовного материала.
2. Применение аллопланта в качестве шовного материала оказывает более благоприятное воздействие на процесс регенерации в стенке мочевого пузыря, по сравнению с кетгутом и викрилом.

1.9. Объем и структура работы. Диссертация изложена на 167 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов исследова-

ний, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа иллюстрирована 14 таблицами и 54 рисунками. Список использованной литературы содержит 220 источников, в том числе 59 зарубежных.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и методы

Экспериментально-клинические исследования проводились с 2003 по 2005 год в условиях клиники кафедры физиологии и хирургии ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» и клинической лаборатории Ставропольской краевой больницы.

Объектом исследования служили крысы линии «ВИСТАР» массой 200–300 грамм (I этап) и беспородные собаки в возрасте 3–5 лет (II этап). Животные опытных групп находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Контролем служили клинически здоровые животные аналогичного возраста и массы тела.

Для выполнения экспериментальной части работы на первом этапе было использовано 70 крыс, которые были разделены на 4 группы: контрольная – 10 животных; три опытных – по 20 крыс в каждой. В 1 опытной группе ушивание раны мочевого пузыря проводили с помощью кетгута. Во 2 группе использовали синтетический рассасывающийся шовный материал – викрил. В 3 группе применяли шовный материал – аллоплант, разработанный директором Российского центра реконструктивной хирургии (г. Уфа), доктором медицинских наук, профессором Эрнстом Рифаатовичем Мулдашевым. Во всех группах нами был изучен клинический статус животных.

Оперативное вмешательство проводили с соблюдением правил асептики и антисептики, под общим наркозом с применением смеси из кетамина (8мг/100 г массы тела) и 2% раствора Рометара (1,5 мг/100 г массы тела).

Крысу фиксировали на специальном столике, проводили удаление волосяного покрова в области предполагаемого разреза, с двукратной дезинфекцией операционного поля 3,0% спиртовым раствором йода. Нами выполнялся разрез кожи в позади-пупочной области размером 2–3 см, разъединение всех слоев брюшной стенки, затем выполняли эвентрацию мочевого пузыря в операционную рану и аспирировали мочу из его полости. В последующем мы выполняли вентральную цистотомию (длина разреза составляла 1 см). В зависимости от экспериментальной группы животных рану мочевого пузыря ушивали швом

Пирогова-Черни (К.А. Петраков, П.Т. Саленко, С.М. Панинский, 2001), с использованием соответствующего шовного материала. Рану брюшной стенки ушивали послойно: первый этаж (брюшина и мышечный слой) – непрерывным швом Шмидена; второй этаж (кожа) – простым узловатым швом. Для ушивания раны брюшной стенки применяли шовный материал, идентичный наложенному на мочевой пузырь.

На втором этапе исследований, после выявления наиболее оптимального, менее травматичного шовного материала, цистотомию выполняли у 15 собак. Для этого за 10–15 минут до дачи основного наркоза проводили премедикацию путем внутримышечного введения, в зависимости от массы тела животного, 1,5–2 мл 0,1%-го раствора атропина сульфата, а затем 1,5 мл/10 кг 2,5%-го раствора аминазина. Для основного наркоза использовали комбинацию из кетамина (10 мг/кг) и 2% раствора Рометара (0,15 мг/кг).

Животных фиксировали на операционном столе конструкции Виноградова в спинном положении. Лапаротомию осуществляли в позади-пупочной области, парамедианным разрезом в обход прямой мышцы живота. По бокам предполагаемого разреза через серозно-мышечный слой стенки мочевого пузыря накладывали нити-держалки. В остальном операцию проводили по аналогии с животными первого этапа эксперимента. У собак для ушивания раны мочевого пузыря применяли только нити аллопланта.

За оперированными животными вели постоянный мониторинг: учет температуры тела, ход заживления кожной раны.

С целью изучения взаимосвязи регенеративной способности и реактивности организма на шовный материал нами проведено изучение гематологических, морфологических и иммунологических показателей крови.

Кровь у крыс брали путем декапитации на 3, 6, 9, 12 и 60 суток после операции, а у собак из *vena safena* до и после операции на 3, 9, 12 и 60 день в две пробирки. В первую добавляли гепарин 0,02 мл с целью стабилизации, во второй находился порошок ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислоты).

Количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов и их морфологический состав, а также уровень гемоглобина, гематокритное число определяли на гематологическом анализаторе CELL DYN 1700, фирмы АБВОТ (США – Япония).

Дифференциальный подсчет лейкоцитов (лейкограмма) проводили визуальной микроскопической оценкой сухих, фиксированных метиловым спиртом, окрашенных азур-эозиновой смесью мазков крови по методу Романовского-Гимза.

Из иммунологических показателей определяли количество В-лимфоцитов (CD20), Т-лимфоцитов (CD3), ЕК-естественных киллеров (CD16) и нулевые клетки (CD2) методом образования розеток с эритроцитами барана (А.В. Караулов, А.М. Земсков, В.М. Земсков, 2002). Уровень иммуноглобулинов – с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на анализаторе иммуноферментных реакций «УНИПЛАН» АИФР – 01, ЗАО «ПИКОН» (г. Москва), тест-системой на определение IgA, IgM, IgG производства ЗАО «Вектор – Бест», г. Новосибирск.

С целью определения цитологической реакции на разные шовные материалы и изучения динамики обменных процессов, происходящих на тканевом и клеточном уровнях, нами выполнялись гистологические и гистохимические исследования. Для этого на 3, 6, 9, 12 и 60 сутки проводили убой крыс с изъятием мочевого пузыря. У собак отбор биоптатов из линии шва мочевого пузыря проводили на 3, 9, 12 и 60 сутки, выполняя лапаротомию.

Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. Фиксированный материал проводили через спирты возрастающей крепости, заливали в парафин. После заливки кусочки фиксировали на деревянные блоки, а затем делали гистосрезы на микротоме, толщиной 5–7 мкм.

Для обзорных целей гистосрезы окрашивали гематоксилином и эозином и по способу Ван-Гизон, коллагеновые волокна – по способу Маллори, тучные клетки выявляли путем окрашивания гистосрезом основным коричневым по методу Шубича по методикам, изложенным в руководствах по гистохимии (Э. Пирс, 1962; Г.А. Меркулов, 1969).

Проводимые нами гистохимические исследования были направлены на оценку белково-синтетической функции клеток по параметрам активности зон ядрышковых организаторов.

При изучении белково-синтетической функции клетки использовали методику оценки параметров активности зон ядрышковых организаторов (AgNORs) (В.И. Турилова и др., 1998). При этом определяли количество, площадь одной зоны и суммарную площадь зон ядрышковых организаторов в ядрах клеток переходного эпителия мочевого пузыря. Оценку параметров активности ядрышковых организаторов осуществляли при увеличении в 1200 раз. Количество и площадь AgNORs на срезе определяли в 10 клетках каждого из 10 полей зрения, при этом учитывали локализацию гранул серебра.

Микротелефотометрические исследования гистосрезом органов и тканей выполняли при помощи анализатора изображения, состоящего из

фотоаппарата OLIMPUS C-2000, полифункционального микроскопа и компьютера «PENTIUM 300», с использованием программы «Видео Тест мастер» версия 4.03 (производство г. Санкт-Петербург, 2004).

Полученные данные анализировали, а числовые показатели обрабатывали методом Ньюмена-Кейлса, двустороннего критерия Стьюдента в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows-95, на IBM-совместимом компьютере. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

2.2. Результаты исследований

2.2.1. Динамика клинических проявлений и гематологических показателей после цистотомии и при применении разных рассасывающихся шовных материалов

При клиническом исследовании подопытных групп крыс и собак в послеоперационный период нами установлено, что в течение первых суток животные большую часть времени лежали, нехотя вставали, вяло передвигались и принимали корм, у них отмечалась жажда. К концу третьих суток их состояние было вполне удовлетворительным.

Температура тела, частота пульса и дыхания у крыс и собак находились у верхней границы физиологической нормы, лишь в группе крыс, раны которых были ушиты кетгутотом, температура тела в первые сутки незначительно превышала норму.

В группе крыс, у которых при цистотомии рану мочевого пузыря ушивали нитью кетгута, в течение семи дней регистрировалась отечность в области операционной раны кожи. Ширина сформировавшегося рубца превышала примерно в два раза таковую у животных, где использовали нить аллопланта.

У крыс, раны которых были ушиты викрилом, отек был менее выражен, а послеоперационный рубец на коже был в два раза меньше, чем у крыс предыдущей группы.

Операционные раны крыс и собак, ушитые нитью аллопланта всегда заживали по первичному натяжению. На шестые сутки после оперативного вмешательства рубец на месте разреза имел бледно-розовый цвет в виде тонкой линии.

Нами проведены исследования, направленные на изучение влияния рассасывающихся шовных материалов (кетгут, викрил, аллоплант) на динамику гематологических показателей после цистотомии.

Показатели, установленные нами у крыс контрольной группы и собак перед операцией, использовались как нормативные.

На третьи сутки после операции у крыс всех экспериментальных групп был выявлен эритроцитоз, гиперхромемия, повышение гематокритного числа, умеренный лейкоцитоз, нейтрофилия с простым регенеративным сдвигом, моноцитопения.

Исследования показали, что нормализация гематологических показателей у животных, перенесших операцию с использованием кетгута, протекала в течение 60 дней, викрила — 12-ти дней, однако лейкоцитоз удерживался до 60-ти суток.

У крыс, операционные раны которых были ушиты нитью аллопланта, показатели гемопоэза стабилизируются на 9–12-й день послеоперационного периода.

При исследовании соотношения различных форм лейкоцитов установлено, что у всех экспериментальных групп крыс на третьи сутки наблюдается достоверное увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, с одновременным уменьшением содержания сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов. Стабилизация соотношения форм лейкоцитов в экспериментальных группах происходит по-разному.

В группе крыс, где применяли кетгут и викрил, содержание палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов возвращается к значениям здоровых животных с девятого по двенадцатый день после операции.

При использовании аллопланта для ушивания операционной раны содержание сегментоядерных нейтрофилов достоверно не отличалось в течение всего периода исследований, а количество палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов приходило к нормальным значениям уже на шестые сутки, что свидетельствует о более быстром купировании воспалительного процесса.

Поскольку стабилизация гемопоэза проходила быстрее в группе крыс, где применяли аллоплант, то это дало основания для его применения при цистотомии у собак.

При изучении гематологических показателей у собак (табл.1.) установлено, что при ушивании операционной раны мочевого пузыря биоматериалом аллоплант практически все они приходят к значениям здоровых животных к двенадцатому дню после цистотомии.

Динамика их изменений аналогична динамике, выявленной в группе крыс, где использовали в качестве шовного материала для ушивания раны мочевого пузыря аллоплант.

В лейкограмме собак, рана мочевого пузыря которых ушита нитью аллопланта, установлено, что только на третьи сутки после операции отмечается увеличение содержания палочкоядерных нейтрофилов. Значительных отклонений в уровне других форм лейкоцитов не выявлено.

Таблица 1.

Гематологические показатели у собак после цистотомии с применением аллопланта (n=15)

№ п/п	Показатель	Норма M±m	Время исследования			
			3 сут M±m	9 сут M±m	12 сут M±m	60 сут M±m
			1	2	3	4
1.	Эритроциты, 10 ¹² /л	6,41±0,14	7,36±0,09	7,15±0,18	6,49±0,12	6,45±0,11
		P1-2* P1-3* P1-4- P1-5-	P2-3- P2-4* P2-5*	P3-4* P3-5*	P4-5-	
2.	Лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,99±0,10	12,30±0,19	10,30±0,20	9,90±0,16	9,80±0,40
		P1-2* P1-3- P1-4- P1-5-	P2-3* P2-4* P2-5*	P3-4- P3-5-	P4-5-	
3.	Гемоглобин, г/л	136,50±0,67	141,30±0,87	140,90±0,61	134,40±0,26	136,30±0,58
		P1-2- P1-3- P1-4- P1-5-	P2-3- P2-4* P2-5*	P3-4* P3-5*	P4-5-	
4.	Гематокрит, %	38,92±1,80	44,17±0,78	43,70±0,39	38,90±0,27	38,95±0,22
		P1-2* P1-3* P1-4- P1-5-	P2-3- P2-4* P2-5*	P3-4* P3-5-	P4-5-	
5.	Лимфоциты, 10 ⁹ /л	5,46±0,14	6,74±0,10	6,45±0,17	5,57±0,13	5,44±0,08
		P1-2* P1-3* P1-4- P1-5-	P2-3- P2-4* P2-5*	P3-4* P3-5*	P4-5-	
6.	Гранулоциты, 10 ⁹ /л	1,95±0,26	2,00±0,08	0,60±0,40	0,80±0,16	1,88±0,09
		P1-2 P1-3* P1-4* P1-5-	P2-3* P2-4* P2-5-	P3-4* P3-5*	P4-5*	
7.	Тромбоциты, 10 ⁹ /л	490,50±17,50	710,2±28,72	672,5±36,54	622,0±23,12	493,0±17,95
		P1-2* P1-3* P1-4* P1-5-	P2-3- P2-4- P2-5*	P3-4* P3-5*	P4-5*	

Примечание: * – различия достоверны, p<0,05

2.2.2. Динамика иммунологических показателей крови после цистотомии при применении разных рассасывающихся шовных материалов

В результате исследований установлено, что в крови животных меняется субпопуляционный состав иммунокомпетентных клеток.

У животных всех групп содержание Т-лимфоцитов (CD3) в течение всего периода исследований значительных колебаний не претерпевает, лишь незначительно снижается на третий день после операции.

При применении в качестве шовного материала аллопланта наблюдается меньшая степень снижения Т-лимфоцитов.

У крыс всех экспериментальных групп после оперативного вмешательства количество В-лимфоцитов (CD20) постепенно снижается до шестых суток, затем повышается на девятый день и стабилизируется к шестидесятому дню.

Содержание естественных киллеров (CD16) в крови крыс всех экспериментальных групп снижается с третьих до девярых суток. Стабилизация содержания естественных киллеров в крови крыс наблюдается с двенадцатого дня после операции, независимо от применяемого нами шовного материала.

В течение шести дней после операции в крови крыс всех опытных групп увеличивается количество нулевых клеток (CD2), но в группе, где применяли в качестве шовного материала аллоплант, уровень их повышения был меньше.

При определении уровня IgA у крыс всех экспериментальных групп установлено, что в крови регистрируется его увеличение до девятого дня после хирургического вмешательства, а к шестидесятому дню он постепенно возвращается к значениям здоровых крыс. Наиболее высокие его значения отмечены в группах, где применяли кетгут и викрил.

Исследования уровня IgM показали, что у крыс первой и второй экспериментальных групп до шестых суток наблюдается значительное повышение его продукции, в то время как в третьей, где применяли аллоплант, он практически не меняется.

Высокое содержание иммуноглобулина G во второй и третьей группах регистрируется на девятый день после операции, а в группе, где применяли кетгут, его максимум был отмечен на двенадцатый день. Повышение уровня этого иммуноглобулина при использовании аллопланта и викрила была меньше, чем при применении кетгута.

У собак, рана мочевого пузыря которых была ушита аллоплантом, установлена такая же динамика в субпопуляционном составе иммунокомпетентных клеток и уровне иммуноглобулинов (табл.2.), как и в группе крыс, где применяли этот шовный материал.

После цистотомии на третий и шестой день происходит снижение содержания В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и особенно естественных киллеров. Количество нулевых клеток повышается с шестого дня послеоперационного периода. Изменения показателей субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток у собак наименее выражены.

Таблица 2.

Иммунологические показатели крови собак при применении аллопланта (n=15)

№ п/п	Показатель	Норма M±m	Время исследования			
			3 сут M±m	9 сут M±m	12 сут M±m	60 сут M±m
			1	2	3	4
1.	CD3, %	47,50±1,19	38,75±0,85	44,50±0,64	47,50±0,65	47,25±1,31
		P1-2* P1-3- P1-4- P1-5-	P2-3* P2-4* P2-5*	P3-4- P3-5-	P4-5-	
2.	CD20, %	15,00±0,40	13,20±0,12	13,25±0,32	14,81±0,39	15,00±0,50
		P1-2* P1-3* P1-4- P1-5-	P2-3- P2-4* P2-5*	P3-4* P3-5*	P4-5-	
3.	CD16, %	5,00±0,11	3,96±0,09	4,27±0,12	4,50±0,11	4,86±0,08
		P1-2* P1-3* P1-4* P1-5-	P2-3- P2-4* P2-5*	P3-4- P3-5*	P4-5*	
4.	CD2, %	32,50±0,28	41,06±0,63	37,87±0,08	35,05±0,57	32,93±0,13
		P1-2* P1-3* P1-4* P1-5-	P2-3* P2-4* P2-5*	P3-4* P3-5*	P4-5*	
5.	Ig A, мг/мл	2,44±0,05	2,40±0,02	2,61±0,04	2,46±0,05	2,44±0,04
		P1-2- P1-3- P1-4- P1-5-	P2-3- P2-4- P2-5-	P3-4- P3-5-	P4-5-	
6.	Ig M, мг/мл	2,02±0,16	2,10±0,16	1,25±0,11	1,16±0,10	1,09±0,11
		P1-2- P1-3* P1-4* P1-5*	P2-3* P2-4* P2-5*	P3-4- P3-5-	P4-5-	
7.	Ig G, мг/мл	11,27±0,16	11,30±0,10	11,80±0,10	11,40±0,04	11,27±0,08
		P1-2- P1-3* P1-4- P1-5-	P2-3* P2-4- P2-5-	P3-4* P3-5*	P4-5-	

Примечание: * – различия достоверны, p<0,05.

Таким образом, динамика иммунологических показателей у собак идентична результатам, полученным у крыс в группе с применением нити аллопланта, а нормализация происходит в более короткие сроки.

2.2.3. Гистологическая оценка срезов мочевого пузыря при ушивании операционной раны разными рассасывающимися шовными материалами

а) Гистологическая картина при ушивании стенки мочевого пузыря крыс кетгутом

При оценке срезов стенки мочевого пузыря в области операционной раны на третий день после операции, выявлено, что края раны совмещены. Эпителий слизистой оболочки в исследуемой зоне отсутствует. Однако имеются почки роста на краях эпителиального слоя, где клетки активно регенерируют. Собственно-слизистый слой в состоянии гиперемии и отека. Наблюдается инфильтрация круглоклеточными элементами. Данное явление присутствует также в волокнистой соединительной ткани межмышечных прослоек мышечной оболочки. В пластах мышечной оболочки наблюдается плазмоллиз миоцитов. На протяжении всей стенки мочевого пузыря обнаружено значительное количество тучных клеток, преимущественно расположенных вокруг кровеносных сосудов. Что же касается кетгута, то уже на этом сроке, как вокруг так и внутрь его прорастают соединительно-тканые клетки, начинающие его разрушение.

На шестой день после операции обнаружена полная эпителизация эпителиального слоя слизистой оболочки, однако дифференцировки клеточных слоев не наблюдается. В подлежащей рыхлой соединительной ткани выявлена обильная инфильтрация круглоклеточными элементами, причем вокруг кетгута преобладают гнойные тельца. Вокруг кетгута находятся как соединительно-тканые клетки, так и соединительно-тканые волокна, среди которых различаются и коллагеновые, и эластические. Аналогичные клетки (соединительно-тканые) находятся и в толще кетгута. Кетгут в состоянии расплавления. Тучные клетки в этот период отсутствуют. Однако наблюдаются эндovasкулиты всех слоев стенки мочевого пузыря. Значительная реакция выявлена со стороны серозной оболочки. Здесь наблюдается отек, инфильтрация гистиоцитами, лимфоцитами, плазмоцитами.

На девятый день после операции эпителий в области раны полностью восстановлен. Кетгут еще не полностью рассосался. Вокруг оставшихся частей кетгута обнаружены соединительно-тканые клетки и коллагеновые волокна. В стенке мочевого пузыря отсутствуют клетки

защитного ряда. Встречаются отдельные очаги с круглоклеточным инфильтратом. Однако здесь не обнаружены ни гнойные тельца, ни плазматические клетки. Со стороны серозной оболочки продолжается отек, выявляется наличие большого количества тучных клеток.

С двенадцатого дня после цистотомии в стенке мочевого пузыря, ушитой кетгутом, воспалительной реакции практически не отмечается, а на шестидесятые сутки в гистосреззах визуализируется по месту рассечения мочевого пузыря рубец из плотных коллагеновых волокон.

б) Гистологическая картина при ушивании стенки мочевого пузыря крыс викрилом

При исследовании гистопрепаратов стенки мочевого пузыря при ушивании раны викрилом на третий день выявлено гнойно-катаральное воспаление. Наблюдается десквамация клеток эпителиального слоя с примесью гнойных телец. В большом количестве имеет место наличие гноя в полости мочевого пузыря. Учитывая мнение ученых, что гной является субстратом биологической очистки раны, считаем в нашем случае данное явление положительным фактом. Подлежащая рыхлая соединительная ткань находится в состоянии отека, что соответствует первой фазе раневого процесса – гидратации. Здесь выявлены эндovasкулиты. В области викрила выявлены скопления гнойных телец, единичные лимфоциты и макрофаги. В этот период в стенке мочевого пузыря находятся единичные тучные клетки, однако в большом количестве они обнаружены в брыжейке.

На шестой день после операции в эпителии гнойных телец не наблюдается. Однако отек рыхлой соединительной ткани продолжает оставаться. Регистрируется незначительная инфильтрация стенки лимфоцитами и обильная инфильтрация тучными клетками. При этом обнаруживаются отек рыхлой соединительной ткани собственно-слизистого слоя, межмышечных прослоек и серозной оболочки, эндovasкулиты. Возле викрила обнаружены макрофаги и в незначительном количестве многоядерные гигантские клетки, по-видимому, «пожирающие» его.

На девятый день после операции в стенке выявляется умеренная инфильтрация лимфоцитами, присутствует отек и эндovasкулиты. Эпителий еще полностью не восстановлен. Рядом с викрилом выявляются гигантские клетки, при этом викрил распадается на фрагменты. В области рубца, при окраске по Маллори, хорошо видны коллагеновые волокна.

На двенадцатый день после операции в области раны регистрируется образование молодой грануляционной ткани. Отек рыхлой соеди-

нительной ткани собственно-слизистого слоя слизистой оболочки и межмышечных прослоек становится значительно меньше. Однако имеет место лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация всех слоев стенки мочевого пузыря с наибольшей концентрацией их вокруг сосудов и в соединительной ткани серозной оболочки. Обнаружены лимфоциты, плазмоциты, а также клетки Унна, которые являются макрофагами, участвующими в биологии раневого процесса. При окраске по Шубичу обнаружено значительное количество тучных клеток. Наблюдается полная эпителизация раны. Однако многослойный эпителий еще тонкий, слои слабо выражены. Викрил подвергается лизису.

На шестидесятый день после операции выявлено, что эпителизация в области раны завершена. Вокруг нитей викрила обнаружена лимфоцитарно-макрофагальная реакция, она также выражена вокруг кровеносных сосудов грануляционной ткани и в серозной оболочке. В области операционного шва при окраске срезов по Ван-Гизон и Маллори заметен рубец, образованный коллагеновыми волокнами. Коллагеновые волокна прорастают вокруг нитей викрила. Тучные клетки в этот период отсутствуют.

в) Гистологическая картина при ушивании стенки мочевого пузыря крыс аллоплантом

При исследовании гистопрепаратов стенки мочевого пузыря, рана которого ушита аллоплантом, на третий день после операции обнаружено, что в стенке присутствует незначительный отек и умеренная инфильтрация лимфоцитами. Регистрируются эндovasкулиты. Вокруг аллопланта обнаружено большое количество гистиоцитов, лимфоцитов и плазматических клеток. Ткани в состоянии некроза (кариорексис) и пропитаны нейтрофилами, то есть наблюдается гнойно-некротическая реакция. Гнойные тельца проникают в толщу аллопланта между его нитями.

На шестой день после операции в срезах мочевого пузыря, окрашенных гематоксилином и эозином, выявлена незавершенная эпителизация, так как клетки эпителия еще не до конца дифференцированы, в собственно-слизистом слое слизистой оболочки – эндovasкулиты и умеренный отек рыхлой соединительной ткани.

На девятый день после операции в стенке мочевого пузыря обнаружена полная эпителизация раны, умеренная лимфоцитарная инфильтрация собственно-слизистого слоя стенки мочевого пузыря. Отек отсутствует. Наблюдается расщепление аллопланта соединительно-тканевыми клетками на мелкие частицы. При окраске по Маллори обнаружено

замещение аллопланта коллагеновыми волокнами, можно сказать, что происходит организация рубца. Причем на этом сроке заживления раны в рубце уже находятся кровеносные сосуды, то есть происходит васкуляризация.

На двенадцатый день в области послеоперационной раны наблюдается полное заживление. При окраске по Маллори в области раневого процесса видны коллагеновые волокна, в толще которых наблюдаются кровеносные сосуды. Соединительно-тканый рубец полностью сформирован. Причем в области мышечной оболочки соединительно-тканый рубец практически отсутствует.

Таким образом, перечисленные морфологические изменения позволяют сделать вывод о том, что при использовании биоматериала аллоплант для ушивания стенки мочевого пузыря после цистотомии воспалительный процесс менее выражен и завершается быстрее, по сравнению с использованием кетгута и викрила.

г) Гистологическая картина при ушивании стенки мочевого пузыря аллоплантом у собак

Нами была проведена аналогичная операция с применением аллопланта у собак.

При оценке срезов мочевого пузыря на третий день после операции выявлена миграция к аллопланту как лимфоцитов, нейтрофилов, так и клеток соединительно-тканного ряда.

На девятые сутки после операции наблюдается, как и в группе крыс, где применяли аллоплант, полная эпителизация раны, умеренная лимфоцитарная инфильтрация собственно-слизистого слоя стенки мочевого пузыря. Отек отсутствует. Аллоплант расщепился на фрагменты, однако еще окружен соединительно-ткаными клетками. Тучных клеток не обнаружено.

На двенадцатые сутки после цистотомии наблюдается полное заживление раны и образование рубца. Коллагеновые волокна в подслизистом слое в незначительном количестве, в их толще наблюдаются кровеносные сосуды (васкуляризация), а в области мышечной оболочки их практически нет.

При оценке срезов на шестидесятый день после операции выявлено, что эпителизация, организация и васкуляризация практически завершена.

Во все периоды исследования при использовании в качестве шовного материала аллоплант у собак нами не было отмечено тучноклеточной реакции.

Таким образом, при использовании для ушивания стенки мочевого пузыря у крыс и собак биоматериала аллоплант его биодеструкция протекает с 6-го по 12-й день. Воспалительный процесс менее выражен, не сопровождается развитием тучноклеточной реакции и значительным разрастанием коллагеновых волокон.

2.2.4. Активность зон ядрышковых организаторов клеток переходного эпителия слизистой оболочки мочевого пузыря после цистотомии с использованием рассасывающихся шовных материалов

В последнее время внимание ученых привлекают аргирофильные белки, ассоциированные с зонами ядрышковых организаторов (AgNORs), выявляемые с помощью коллоидного серебра.

Изучение зон ядрышковых организаторов, выявляемых методом AgNORs, дает возможность оценить готовность клеток к синтезу рибосомальной РНК, имеющей непосредственное отношение к синтезу белка.

При изучении параметров активности зон ядрышковых организаторов в ядрах клеток переходного эпителия слизистой оболочки мочевого пузыря здоровых крыс установлено, что в них обнаруживается до 5 зон, с суммарной площадью до $16,63 \pm 1,20$ мкм², при этом средняя площадь одной зоны составила $6,39 \pm 0,37$ мкм².

У здоровых собак установлено, что количество зон ядрышковых организаторов в ядрах клеток переходного эпителия слизистой оболочки мочевого пузыря доходит до 6, средняя площадь одной зоны составила $7,08 \pm 0,26$ мкм², а суммарная площадь — до $23,62 \pm 1,57$ мкм².

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что у крыс при применении кетгута, викрила и аллопланта в послеоперационном периоде количество, средняя площадь одной зоны и суммарная площадь AgNORs в ядрах переходного эпителия слизистой оболочки мочевого пузыря меняются с различной периодичностью. После операции наблюдается снижение параметров активности зон ядрышковых организаторов, которые даже к шестидесятому дню полностью не восстанавливаются.

У собак, рана мочевого пузыря которых была ушита аллоплантом, при гистохимическом исследовании выявлено, что кроме площади ядра, в клетках переходного эпителия слизистой оболочки, с различной периодичностью меняется количество, суммарная площадь и средняя площадь одной зоны ядрышкового организатора (табл. 3.).

Таблица 3.

**Площадь ядра и параметры активности зон ядрышковых организаторов
в клетках мочевого пузыря у собак до и после цистотомии (n=15)**

№ п/п	Показатель	Норма M±m	Время исследования (сутки)			
			3 сут M±m	9 сут M±m	12 сут M±m	60 сут M±m
			1	2	3	4
1.	Площадь ядра, мкм ²	190,30±12,39	197,60±12,33	95,26±9,07	105,70±8,91	95,04±2,93
		P1-2- P1-3* P1-4* P1-5*	P2-3* P2-4* P2-5*	P3-4- P3-5-	P4-5-	
2.	Количество AgNORs в ядре, шт.	3,33±0,25	1,68±0,15	2,09±0,16	1,80±0,29	1,70±0,13
		P1-2* P1-3* P1-4* P1-5*	P2-3* P2-4- P2-5-	P3-4- P3-5*	P4-5-	
3.	Суммарная площадь зон AgNORs, мкм ²	23,62±1,57	26,09±2,48	12,49±1,10	8,78±0,95	12,84±0,70
		P1-2- P1-3* P1-4* P1-5*	P2-3* P2-4* P2-5*	P3-4- P3-5-	P4-5*	
4.	Средняя площадь одной зоны AgNORs, мкм ²	7,08±0,26	15,46±0,96	5,96±0,52	4,87±0,43	7,55±0,31
		P1-2* P1-3- P1-4- P1-5-	P2-3* P2-4* P2-5*	P3-4- P3-5-	P4-5*	

Примечание: * – различия достоверны, p<0,05.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при цистотомии у собак, как и у крыс, происходит снижение показателей активности зон ядрышковых организаторов клеток переходного эпителия слизистой оболочки мочевого пузыря и даже к шестидесятому дню они полностью не восстанавливаются.

Выявленное значительное снижение параметров активности зон ядрышковых организаторов обусловлено, на наш взгляд, ответной реакцией на повреждение стенки мочевого пузыря вследствие цистотомии.

3. ВЫВОДЫ

1. В послеоперационный период у крыс и собак температура тела, частота пульса и дыхания находились у верхней границы физиологической нормы, за исключением животных, у которых раны мочевого пузыря были ушиты кетгутом, где в первые сутки температура тела была незначительно повышена.
2. Изменения в гематологическом статусе животных регистрируется на 3-й день после цистотомии и характеризуется эритроцитозом, гиперхромемией, повышением гематокритного числа, умеренным лейкоцитозом, нейтрофилией с простым регенеративным сдвигом, моноцитопенией, что является следствием незначительной кровопотери и развитием доброкачественного воспалительного процесса.
3. Нормализация гематологических показателей у животных, перенесших операцию с использованием кетгута, протекала в течение 60-ти дней, викрила – 12-ти дней, однако лейкоцитоз удерживался до 60-ти суток. При применении аллопланта этот период уменьшается до 9–12-ти дней.
4. После цистотомии на 3–6-й день происходит снижение содержания В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и особенно естественных киллеров. Количество нулевых клеток повышается с 6-го дня послеоперационного периода. Степень изменения показателей субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток наименее выражена при применении аллопланта, что свидетельствует об иммунологической толерантности материала.
5. Имплантация кетгута и викрила при цистотомии у крыс вызывает увеличение продукции IgA и IgM вплоть до 9-го дня, а при использовании аллопланта она практически не изменяется. Продукция IgG постепенно возрастает при применении кетгута до 12-го дня, а при использовании викрила и аллопланта лишь до 9-го дня после цистотомии.
6. Морфологические изменения в стенке мочевого пузыря у крыс при использовании кетгута и викрила на 3-й день после цистотомии проявляются воспалительной гнойно-некротической реакцией с лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрацией. При применении кетгута процессы биодеградации протекают в период с 6-х по 12-е сутки, а при использовании викрила с 12-го дня не завершаясь и к 60-му, сопровождаются появлением гигантских клеток и значительной тучноклеточной реакцией.

7. При использовании для ушивания стенки мочевого пузыря у крыс и собак биоматериала аллоплант, его биодеструкция протекает с 6-го по 12-й день. Воспалительный процесс менее выражен, не сопровождается развитием тучноклеточной реакции и значительным разрастанием коллагеновых волокон.
8. Цистотомия у собак и крыс приводит к снижению показателей активности зон ядрышковых организаторов клеток переходного эпителия слизистой оболочки мочевого пузыря. Степень этих уменьшений не зависит от вида рассасывающегося шовного материала, использованного для ушивания раны. Восстановление показателей не заканчивается даже к 60-му дню послеоперационного периода.
9. Динамика гематологических и иммунологических показателей у собак при цистотомии с использованием аллопланта не отличается от таковой у крыс, прооперированных этим же методом. Не выявлено принципиальных различий в морфологических изменениях тканей мочевого пузыря и процессах биодegradации шовного материала.
10. Характер изменения гематологических, иммунологических показателей, менее выраженные нарушения в гистоструктуре стенки мочевого пузыря, наблюдаемые при использовании биоматериала аллоплант, позволяют считать его применение наиболее целесообразным при цистотомии у собак.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Положительные результаты, полученные при использовании биоматериала аллоплант в качестве рассасывающегося шовного материала при цистотомии у собак, позволяют рекомендовать его к использованию в ветеринарной хирургической практике.
2. Значения морфофункциональных показателей крови и результаты морфологических исследований тканей мочевого пузыря могут использоваться практикующими врачами ветеринарной медицины при оценке здоровья мелких домашних животных.
3. Основные положения диссертации могут быть использованы при проведении научных исследований, обучении студентов вузов и колледжей ветеринарного профиля, а также при составлении монографий, учебных и справочных пособий.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Квочко, А. Н. Обоснование к изучению морфологии мочевого пузыря для выполнения оперативных вмешательств / А. Н. Квочко, А. В. Меркулов // Актуальные проблемы современной науки : сборник научных трудов аспирантов и молодых ученых СтГАУ. – Ставрополь : Изд-во СтГАУ «АГРУС», 2004. – С. 64–66.
2. Квочко, А. Н. Гематологические показатели крови при цистотомии у крыс / А. Н. Квочко, А. В. Меркулов // Повышение эффективности лечения и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний и биотехники размножения животных. – Киров: Вятская ГСХА, 2005. – С. 64–65.
3. Квочко, А. Н. Динамика гематологических показателей крови крыс при ушивании кетгутотомии раны мочевого пузыря / А. Н. Квочко, А. В. Меркулов // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных : сборник научных трудов по материалам 69-й научно-практической конференции. – Ставрополь : Агрус, 2005 – С. 46–48.
4. Меркулов, А. В. Динамика гематологических показателей крови собак при цистотомии с применением шовного материала аллоплант / А. В. Меркулов // Ветеринарная служба Ставрополя. – 2005. – №5. – С. 25–28.
5. Меркулов, А. В. Динамика иммуноглобулинов А, М и G в крови собак в норме и после цистотомии с применением шовного материала аллоплант / А. В. Меркулов // Управление функциональными системами организма : материалы Международной научно-практической Интернет-конференции, посвященной 75-летию кафедры физиологии и 60-летию кафедры хирургии Ставропольского государственного аграрного университета. – Ставрополь : АГРУС, 2006. – С. 128–130.

Подписано в печать 13.03.2006.
Формат 60x84¹/₁₆. Бумага офсетная. Гарнитура «Times». Печать офсетная.
Усл. печ. л. 1,4. Тираж 150 экз. Заказ №147.

Налоговая льгота — Общероссийский классификатор продукции ОК 005-93-953000.

Издательство Ставропольского государственного
аграрного университета «АГРУС»,
г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.
Тел./факс (8652) 35-06-94. E-mail: agrus@stgau.ru; <http://www.agrus.stgau.ru>.

Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса
СтГАУ «АГРУС», г. Ставрополь, ул. Мира, 302.

2006A

7575

P-7575

3

303