



<https://doi.org/10.34883/PI.2025.14.1.025>
УДК 616.352-007.253-089:57.08



Денисенко Э.В.¹, Гаин Ю.М.²✉, Денисенко В.Л.^{1,3}, Гавриченко Н.И.⁴, Малащенко С.В.⁵,
Медведев М.Н.³, Гаин М.Ю.²

¹ Витебский областной клинический специализированный центр, Витебск, Беларусь

² Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

³ Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

⁴ Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Витебск, Беларусь

⁵ Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро,
Витебск, Беларусь

Экспериментальное обоснование новых методов моделирования и малоинвазивного лечения транссфинктерного свища прямой кишки

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Денисенко Э.В., Гаин Ю.М., Денисенко В.Л., Гаин М.Ю. – сбор литературы, концепция и дизайн исследования, анализ материалов и результатов, написание статьи и редактирование; Денисенко Э.В., Гавриченко Н.И., Малащенко С.В., Медведев М.Н. – выполнение эксперимента, сбор и анализ материала и полученных данных.

Этическое заявление: объем и характер экспериментальных исследований согласован с комитетом по биоэтике Витебского государственного медицинского университета.

Финансирование: исследование проведено в рамках инициативной темы НИР (№ государственной регистрации 20191550 от 02.07.2019).

Подана: 08.10.2024

Принята: 03.02.2025

Контакты: gain@tut.by

Резюме

Цель. Разработать хорошо воспроизводимую экспериментальную модель эпителизированного транссфинктерного свища прямой кишки и на его базе обосновать новую эффективную технологию его малоинвазивного хирургического лечения.

Материалы и методы. На первом этапе осуществлялось моделирование свищевого хода у 12 кроликов путем проведения спицы с колющим концом из нержавеющей стали (спица Киршнера) диаметром 1 мм со стороны слизистой оболочки через прямую кишку на кожу промежности с последующим уменьшением диаметра конструкции с целью недопущения некроза тканей вследствие их отека. Оценены гистологические изменения тканей в области свища на 7-е, 20-е и 30-е сутки после начала эксперимента. На втором этапе на созданной модели транссфинктерного эпителизированного свища проведена сравнительная оценка эффективности двух методов его малоинвазивного лечения.

Результаты. У всех животных отмечено однотипное формирование к 30-м суткам точечного эпителизированного транссфинктерного ректального свища на коже промежности с умеренным гнойным отделяемым. Установлено, что лазерная термооблитерация свища длиной волны 1560 нм в комбинации с введением фибринового клея и инъекционным введением в парафиссуральные ткани препарата L-PRP позволяет увеличить скорость и качество формирующейся соединительной ткани в сравнении с использованием лазера в моноварианте, добиться более быстрой регенерации свищевого хода.

Заключение. Для экспериментальной хирургии предлагается простой и эффективный метод моделирования свища прямой кишки у лабораторного животного с высоким уровнем воспроизводимости. Сравнительный анализ применения лазерной термооблитерации ректального свища в комбинации с использованием фибринового клея и препарата L-PRP свидетельствует о преимуществах данной технологии в сравнении с изолированной лазерной обработкой свищевого хода, что позволяет рекомендовать этот метод для использования в клинической практике.

Ключевые слова: ректальный свищ, моделирование, лазерная термооблитерация, комбинированное лечение, фибриновый клей

Denisenko E.¹, Gain Yu.²✉, Denisenko V.^{1,3}, Gavrichenko N.⁴, Malashenko S.⁵, Medvedev M.³, Gain M.²

¹ Vitebsk Regional Clinical Specialized Center, Vitebsk, Belarus

² Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

³ Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

⁴ Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus

⁵ Vitebsk Regional Clinical Pathological Anatomy Bureau, Vitebsk, Belarus

Experimental Substantiation of New Methods of Modeling and Minimally Invasive Treatment of Transsphincteric Fistula of the Rectum

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Denisenko E., Gain Yu., Denisenko V., Gain M. – collection of literature, concept and design of the study, analysis of materials and results, writing the article and editing; Denisenko E., Gavrichenko N., Malashenko S., Medvedev M. – experiment performance, collection and analysis of material and obtained data.

Ethics statement: the scope and nature of the experimental studies were agreed with the Bioethics Committee of the Vitebsk State Medical University.

Funding: the study was conducted within the framework of the initiative research topic (state registration number 20191550 dated 02.07.2019).

Submitted: 08.10.2024

Accepted: 03.02.2025

Contacts: gain@tut.by

Abstract

Purpose. To develop a well-reproducible experimental model of epithelialized transsphincteric fistula of the rectum and, on its basis, to substantiate a new effective technology for its minimally invasive surgical treatment.

Materials and methods. At the first stage, the fistula tract was modeled in 12 rabbits by inserting a 1 mm diameter stainless steel piercing needle (Kirschner wire) from the mucous membrane side through the rectum onto the perineal skin, followed by a decrease in the diameter of the structure in order to prevent tissue necrosis due to tissue edema. Histological changes in the tissues in the fistula area were assessed on days 7, 20 and 30 after the start of the experiment. At the second stage, a comparative assessment of the effectiveness of two methods of minimally invasive treatment was performed on the created transsphincteric epithelialized fistula model.



Results. All animals showed uniform formation of a punctate epithelialized transsphincteric rectal fistula on the perineal skin with moderate purulent discharge by the 30th day. It was found that laser thermal obliteration of the fistula with a wavelength of 1560 nm in combination with the introduction of fibrin glue and injection of L-PRP into the parafissural tissues allows to increase the speed and quality of the forming connective tissue in comparison with the use of a laser in a monovariant, to achieve faster regeneration of the fistula tract.

Conclusion. A simple and effective method for modeling a rectal fistula in a laboratory animal with a high level of reproducibility is proposed for experimental surgery. A comparative analysis of the use of laser thermal obliteration of the rectal fistula in combination with the use of fibrin glue and L-PRP indicates the advantages of this technology in comparison with isolated laser treatment of the fistula tract, which allows us to recommend this method for use in clinical practice.

Keywords: rectal fistula, modeling, laser thermal obliteration, combined treatment, fibrin glue

■ ВВЕДЕНИЕ

Свищи прямой кишки относятся к часто встречаемой патологии в экономически развитых странах (заболеваемость составляет 1,2–2,8 случая на 10 тыс. населения в год) [1]. В 30–50% случаев свищи являются следствием перенесенного острого парапроктита. Наиболее часто они развиваются у лиц в возрасте от 20 до 50 лет, обуславливая высокую социальную значимость заболевания [2]. Особая сложность в диагностике и лечении отмечается при развитии высоких трансфинктерных и экстрасфинктерных свищей в связи с недостаточной эффективностью используемых малоинвазивных технологий, а также высоким риском развития анальной инконтиненции и других осложнений при использовании более инвазивных методов хирургического лечения (таких как фистулэктомия, установка сетона и др.) [3].

Известен эффективный метод моделирования свища прямой кишки в эксперименте, при котором белой беспородной крысе производилось введение микробно-каловой суспензии в подкожную клетчатку вблизи от анального канала с последующим проведением через полость гнойника, формирующуюся на 7-е сутки, хирургической нити. При этом на 14-е сутки у крысы вблизи от заднепроходного отверстия на коже формируется точечный свищ с умеренным гнойным отделяемым, который сообщается с гнойной полостью и просветом прямой кишки животного [4, 5]. Однако метод имеет ряд недостатков в виде высокого риска самостоятельного удаления нити животным с прерыванием процесса формирования свища, отсутствия признаков эпителизации свищевого хода при гистологическом исследовании, сохраняющихся возможностей развития генерализованного инфекционного процесса с быстрой гибелью животных, а также малого размера как самой крысы, так и формируемого у нее свищевого хода, что затрудняет его использование для отработки хирургических методов лечения ректальных фистул.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать хорошо воспроизводимую экспериментальную модель эпителизированного трансфинктерного свища прямой кишки и на его базе обосновать новую эффективную технологию его малоинвазивного хирургического лечения.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на базе УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» с использованием 32 животных (взрослых белых кроликов калифорнийской породы обоих полов массой $4,63 \pm 1,25$ кг). Для моделирования ректального свища после фиксации животных в положении лежа на животе и освобождения кожи перианальной области от шерсти в условиях нейролептанальгезии 2% раствором ксилозина гидрохлорида путем прокола со стороны слизистой анального канала через все слои и мышцы сфинктерного аппарата прямой кишки проводили спицу из нержавеющей стали диаметром 1 мм (спица Киршнера, с хром-никелевым покрытием, марка стали 12X18H10, ИСО 5838-3 – «Имплантаты для хирургии. Стержни, спицы и проволока для скелетного вытяжения. Спицы Киршнера для скелетного вытяжения») с выколом на коже промежности (рис. 1а, б) с последующим соединением (фиксацией) свободных концов металлической конструкции для предотвращения ее самостоятельного удаления животным (рис. 1с). На 7-е сутки через сформированный тканевой канал проводили спицу более мелкого диаметра (0,5 мм). Ее концы укорачивали и соединяли между собой аналогично первой конструкции (рис. 1d). Спицу оставляли в раневом канале еще на 5 суток. После ее извлечения (на 12-е сутки от начала эксперимента) у всех животных отмечалось наличие сформированного точечного гнойного свища, соединяющего просвет прямой кишки с кожей промежности. У 12 животных в динамике прослежена судьба сформированного свища. При этом осуществляли поэтапное выведение животных из эксперимента на 1-е, 7-е, 20-е и 30-е сутки (эвтаназию выполняли путем внутривенного введения избыточной дозы барбитуратов). В эти сроки осуществляли забор комплекса тканей из области свища и внутренних органов для гистологического исследования. На разработанный авторами метод моделирования свища получен патент Республики Беларусь на изобретение № 23703 [6].

У части животных ($n=10$) в проспективном сравнительном исследовании была оценена эффективность применения разработанного малоинвазивного метода лечения ректального свища. Данный метод заключался в лазерной термодеструкции свищевого хода (с помощью радиального диодного лазера длиной волны 1560 нм, мощностью 10 Вт) с последующим введением в его просвет фибринового клея и инъекцией в парафистулярные ткани аутологичной плазмы крови, обогащенной тромбоцитами и лейкоцитами (L-PRP). Непосредственно перед вмешательством готовили рабочие растворы препарата фибринового клея и L-PRP. Для получения аутологичной L-PRP у животного из ушной вены накануне операции брали 3 мл крови, размещали в стерильную пластиковую пробирку с 0,5 мл 3,8% раствора цитрата натрия, выполняли ее центрифугирование в течение 20 минут с числом оборотов 2000/мин, что способствовало разделению крови на 3 слоя. Средний слой, расположенный непосредственно над эритроцитарной массой и содержащий плазму, которая обогащена лейкоцитами и тромбоцитами, собирали в отдельный стерильный шприц.

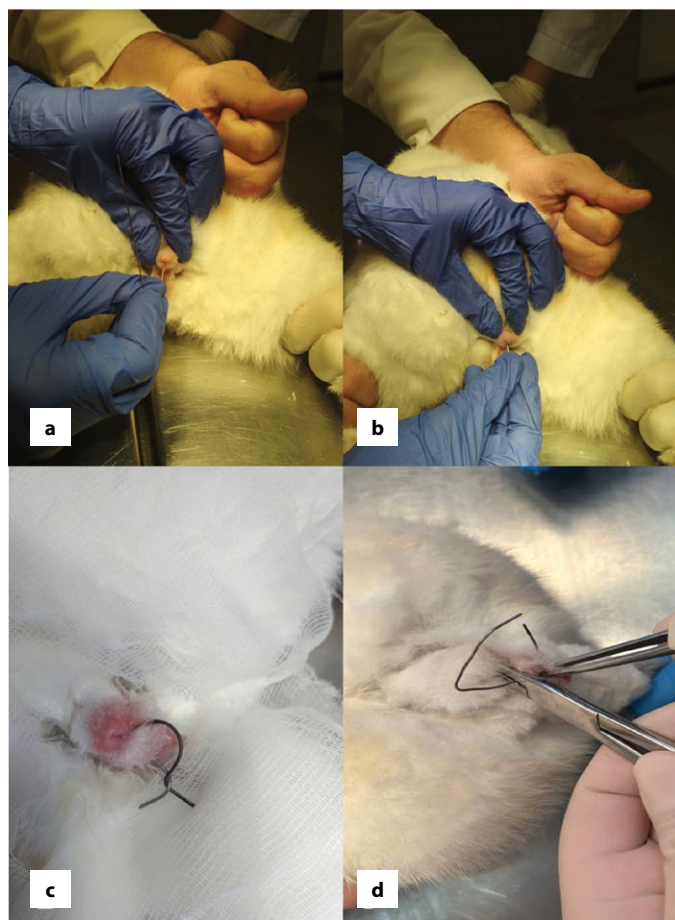


Рис. 1. Этапы формирования трансфинктерного свища прямой кишки у лабораторного животного (пояснения в тексте)

Fig. 1. Stages of formation of transsphincteric fistula of the rectum in a laboratory animal (explanations in the text)

Раствор фибринового клея «Фибриностат» перед операцией приготавливали в соответствии с инструкцией производителя (ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», Республика Беларусь). Предварительно готовили 2 стерильных рабочих раствора – фибриногена 8 мг и тромбина 600 ЕД. Раствор фибриногена получали путем внесения в лиофилизированный фибриноген 3 мл раствора контрикала с активностью 3000 ЕИК/мл с полным растворением при нагревании до 37 °С. Раствор тромбина 600 ЕД готовили путем внесения 3 мл раствора кальция хлорида 8,5 мг/мл во флакон с тромбином и нагревания до 37 °С вплоть до полного растворения содержимого флакона. Перед применением растворы фибриногена и тромбина набирались в разные одноразовые стерильные шприцы.

После фиксации кролика в положении лежа на животе в условиях анальгезии (нейролептанальгезия 2% раствором ксилазина гидрохлорида) в свищевой ход основной группы животных ($n=10$) со стороны кожного отверстия с гнойным отделяемым (на рис. 2а обозначено стрелкой) на всю длину вводили кварцевый световод. С использованием хирургического диодного лазера длиной волны 1560 нм и мощностью 8–10 Вт в постоянном режиме эмиссии последовательно обрабатывали просвет свищевого хода при извлечении световода со скоростью 1–2 мм/с (рис. 2б).

Ранее проведенными исследованиями установлено выраженное стерилизующее (деконтаминирующее) влияние лазерного излучения длиной волны 1560 нм и мощностью 8–10 Вт на основную группу бактерий прямокишечного микробиома [7]. При этом доказано, что воздействие излучения лазера обозначенных параметров на любую хроническую рану промежности активирует процессы фиброгенеза, начиная с 5-х суток после воздействия, стимулирует выработку в ране прочного коллагена I типа и активацию металлопротеиназы-9 (MMP-9). Повышение экспрессии MMP-9 при лазерном воздействии ассоциировано с увеличением синтеза в ране коллагена I типа. При этом было установлено, что при использовании L-PRP активность процессов фиброгенеза достигает пика на 8-е сутки эксперимента, о чем свидетельствует повышение уровня коллагена ремоделирования III типа ($p<0,05$) [8]. Обозначенные процессы благоприятно влияют на регенерацию любой хронической раны промежности (в том числе свища прямой кишки).

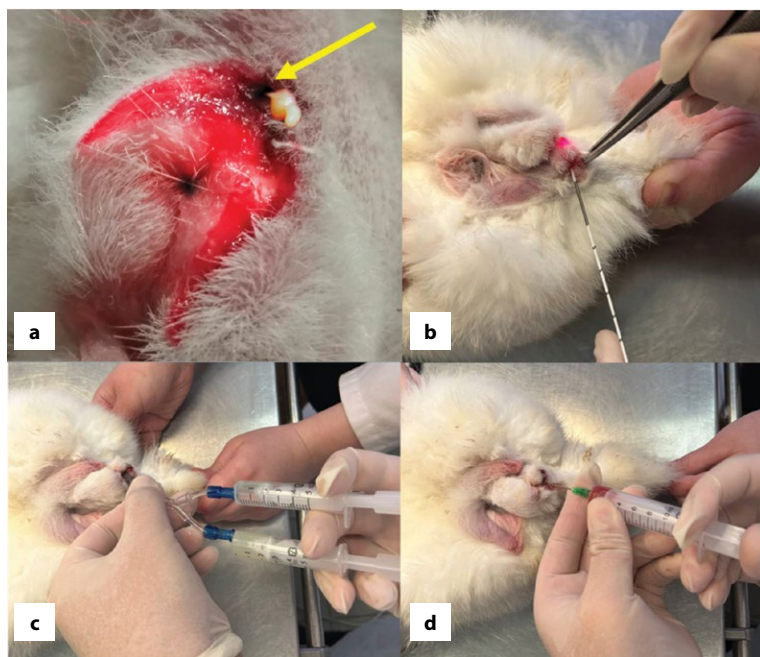


Рис. 2. Этапы выполнения разработанного малоинвазивного метода лечения свища прямой кишки (обозначения в тексте)

Fig. 2. Stages of implementation of the developed minimally invasive method of treatment of rectal fistula (designations in the text)



В дополнение к лазерной термодеструкции свищевого хода в просвет свища с помощью шприца и периферического венозного пластикового катетера с внутренним диаметром 1,3–1,7 мм вводили фибриновый клей до тугого заполнения всех отделов последнего (рис. 2с). Одновременное введение смеси из фибриногена, тромбина и ионов кальция в просвет свищевого хода при их взаимодействии приводит к последовательному образованию фибрина в составе растворимого тромба, а после активации XIII фактора свертывания крови эта комбинация способствует формированию нерастворимого тромба. Принцип действия этой технологии основан на идее индуцированной регенерации тканевого дефекта благодаря стимуляции миграции и пролиферации фибробластов и плюрипотентных эндотелиоцитов, а также образованию коллагена, который в период между 7-м и 14-м днями замещает лизированный плазмином окружающей ткани фибриновый сгусток. Для введения 2 компонентов препарата «Фибриностат» в канюлю-катетер использовали специальную двухшприцевую систему «Соединитель медицинский полимерный» (входит в комплект), обеспечивающую поступление в канюлю равных объемов растворов тромбина и фибриногена.

Инъекционно введенный в парафиссуральные ткани раствор аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами и лейкоцитами (рис. 2d), обеспечивает доставку в компетентную зону ряда ростовых факторов (PDGF, EGF, VEGF, 3-FGF, 31 (TGF- β 1), IGF и др.), антибактериальных и фунгицидных белков, ингибирующих инфекционный процесс, а также нескольких протеаз (например, металлопротеазы-4), факторов коагуляции (тромбоспондина, фибронектина, фактора Виллебранда), Р-селектина, CD63, АДФ, АТФ, ионов кальция, гистамина, серотонина, допамина, кислотных гидролаз, катепсинов D и E, эластазы, лизозима и некоторых других факторов. Содержание в аутологичной L-PRP нативных лейкоцитов, служащих источником цитокинов, хемокинов и ряда других протеинов, которые весьма специфично влияют на хемотаксис, пролиферацию и созревание клеток, модуляцию подстрекательских молекул и привлечение регенеративных клеток, усиливает противомикробное и ангиогенное действие L-PRP прямо или опосредованно через продуцируемые лейкоцитами цитокины, а также за счет секретируемого этими клетками фактора роста эндотелия сосудов VEGF [8]. На разработанный авторами метод лечения свища прямой кишки получен Евразийский патент на изобретение № 045682 В1 [9].

В контрольную группу включены животные (n=10), которым произведена только лазерная фотодеструкция внутреннего слоя свищевого хода радиальным диодным лазером длиной волны 1560 нм и мощностью 10 Вт. Животные обеих групп выведены из эксперимента по 3 особи через 7, 15 и 20 суток после применения лечебных технологий. Произведено гистологическое исследование тканей из области свищевых ходов и внутренних органов. Гистологические препараты фиксировали, осуществляли проводку, заливку парафином, изготовление срезов и окраску стандартным способом с использованием гематоксилина и эозина, а также специальных методов детальной верификации структуры соединительной ткани и количества коллагена (по Маллори, по Ван-Гизону, серебрением). Морфометрически оценивали количественные показатели соединительной ткани – толщину пучков коллагеновых волокон и величину межпучковых пространств. При проведении морфометрических исследований препаратов использовали компьютерную систему анализа изображений (микроскоп Leica DM 2000 с цифровой камерой и лицензионной программой Leica Application Suite, Version 3.6.0).

Во время всего эксперимента животные находились в стандартных условиях вивария – широких клетках со свободным доступом к пище и воде. Все исследования проводили в полном соответствии с современными принципами биоэтики, в том числе Европейской конвенцией по защите прав позвоночных животных (принятой в Страсбурге 18 марта 1986 г.) и Всемирной декларацией прав животных (Universal Declaration of Animal Rights, принятой Международной лигой прав животных 23 сентября 1977 г. в Лондоне и объявленной 15 октября 1978 г. в штабе ЮНЕСКО в Париже) после согласования плана эксперимента комиссией по биоэтике УО «Витебская орден «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Моделирование свища прямой кишки, содержание животных, выведение их из эксперимента и забор материала проходили в условиях операционной вивария в выделенном специальном помещении, соответствующем всем правилам и нормам при работе с условно-патогенными микроорганизмами, с соблюдением правил асептики и антисептики [10, 11].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

После моделирования патологического процесса во всех наблюдениях у животных к 30-м суткам отмечено однотипное формирование точечного свища на коже промежности вблизи заднепроходного отверстия с умеренным гнойным отделяемым и патологическим сообщением с просветом прямой кишки животного в проекции анального жома (рис. 2а).

При этом свищевой ход после извлечения второй спицы (шины) терял свой линейный характер, начинал приобретать извилистую (змеевидную) форму с изменением его полостной структуры (с участками сужения и бухтообразными расширениями). При гистологическом исследовании тканей на 7-е сутки в области формирующегося свища определялся дефект тканей в виде хода с располагающимися в его просвете некротическими тканями и детритом. В демаркационной зоне обнаружены грануляционная ткань со множеством новообразованных кровеносных сосудов, инфильтрация лимфоцитами и эозинофилами, кровоизлияния. Отмечены начинающиеся признаки эпителизации свищевого хода в виде узкой полосы многослойного плоского эпителия, обрывающегося ближе к зоне выраженного некротического процесса (рис. 3).

На 20-е сутки от начала эксперимента гистологический анализ тканей в области свищевого хода позволил идентифицировать свищевой ход с некротическими тканями, тканевым детритом в просвете свища. Выявлены признаки эпителизации в устье и фрагментарно на протяжении 80% длины свищевого хода с формированием многослойного плоского ороговевающего эпителия, при этом четко были видны зоны контакта столбчатого эпителия кишечника с криптами (с одной стороны) и метаплазии эпителиальной выстилки (с противоположной стороны) (рис. 4).

Окончательный вид свищ приобретал только к 30-м суткам после моделирования. При гистологическом исследовании в этот срок выявлялся извитой свищевой ход, очистившийся от некротических масс и тканевого детрита, в парафиссуральных тканях наблюдались микроабсцессы и функционирующие анальные железы. По всей длине свищевого хода отмечалась полная его эпителизация с формированием многослойного плоского ороговевающего эпителия (рис. 5).

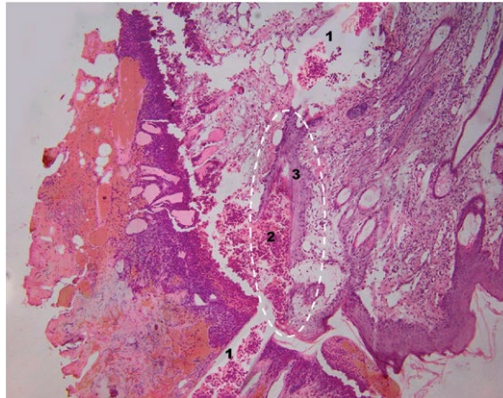


Рис. 3. Изменения тканей в зоне свища на 7-е сутки от начала моделирования патологического процесса, окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$: 1 – свищевой ход; 2 – некротические ткани, тканевой детрит в просвете свища; в демаркационной зоне – грануляционная ткань со множеством новообразованных кровеносных сосудов, инфильтрация лимфоцитами и эозинофилами, кровоизлияния; 3 – признаки эпителизации (обведены пунктирной линией) в виде узкой полосы многослойного плоского эпителия, обрывающегося ближе к зоне выраженного некротического процесса

Fig. 3. Tissue changes in the fistula area on the 7th day from the onset of the pathological process modeling, hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 100$: 1 – fistula tract; 2 – necrotic tissue, tissue detritus in the fistula lumen; in the demarcation zone – granulation tissue with multiple newly formed blood vessels, infiltration with lymphocytes and eosinophils, hemorrhages; 3 – signs of epithelialization (circled by a dotted line) in the form of a narrow strip of stratified squamous epithelium, breaking off closer to the zone of pronounced necrotic process

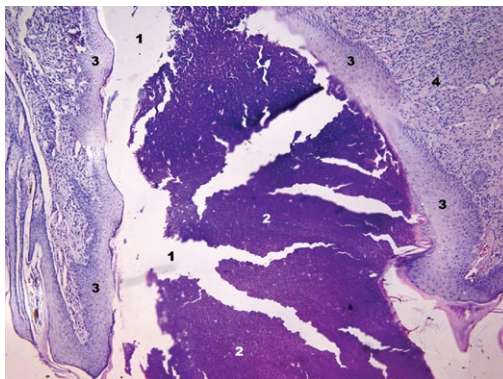


Рис. 4. Изменения тканей в зоне устья свища на 20-е сутки от начала моделирования, окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$: 1 – свищевой ход; 2 – некротические ткани, тканевой детрит в просвете свища; 3 – признаки эпителизации в устье и фрагментарно на протяжении 80% длины свищевых ходов с формированием многослойного плоского ороговевающего эпителия; видна зона контакта столбчатого эпителия кишечника с криптами с одной стороны и метаплазия эпителиальной выстилки с противоположной стороны; 4 – полиморфноядерноклеточная лейкоцитарная инфильтрация тканей пограничной зоны

Fig. 4. Tissue changes in the fistula mouth area on the 20th day from the start of modeling, hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 100$: 1 – fistula tract; 2 – necrotic tissue, tissue detritus in the fistula lumen; 3 – signs of epithelialization at the mouth and fragmentarily along 80% of the fistula tract length with the formation of multilayered squamous keratinized epithelium; the contact zone of the columnar intestinal epithelium with the crypts on one side and metaplasia of the epithelial lining on the opposite side are visible; 4 – polymorphonuclear leukocyte infiltration of border zone tissues

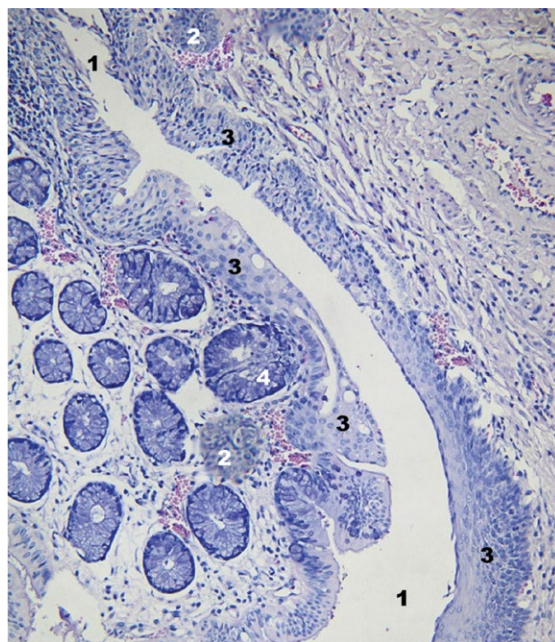


Рис. 5. Изменения тканей в зоне свища на 30-е сутки от начала моделирования патологического процесса, окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$: 1 – извитой свищевой ход, очистившийся от некротических масс и тканевого детрита; 2 – микроабсцессы в парафиссуральных тканях; 3 – полная эпителизация всей длины свищевого хода с формированием многослойного плоского ороговевающего эпителия; 4 – функционирующие анальные железы

Fig. 5. Tissue changes in the fistula area on the 30th day from the beginning of the pathological process modeling, hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 100$: 1 – tortuous fistula tract cleared of necrotic masses and tissue detritus; 2 – microabscesses in parafistular tissues; 3 – complete epithelialization of the entire length of the fistula tract with the formation of multilayered squamous keratinized epithelium; 4 – functioning anal glands

На втором этапе эксперимента при оценке эффективности применения разработанной технологии малоинвазивного лечения транссфинктерного свища прямой кишки в основной группе животных сразу после использования комплексного метода у всех особей прекратилось отделяемое из кожного отверстия свищевого хода. Внешне все животные были активны, отличались хорошим аппетитом и достаточной мобильностью. Инфильтрация тканей и болезненность в зоне вмешательства при пальпации с реакцией животных на дигитальную пальпацию исчезли у животных основной группы на $5,4 \pm 1,0$ суток. На протяжении всего периода наблюдения (до выведения из эксперимента) наружное отверстие было прикрыто прочной корочкой, после отторжения которой (на 5–6-е сутки) в области бывшего свища у всех животных выявлялся точечный рубчик с признаками эпителизации (рис. 6).

При гистологическом исследовании тканей на 7-е сутки после применения разработанного метода у животных основной группы в зоне свища определялись: небольшие зоны с начинающейся эпидермизацией и экзоцитозом нейтрофилов, вокруг которых выявлялось наличие грубоволокнистой фиброзной ткани с вовлечением придатков кожи, а также сохраняющиеся участки острого воспаления в зоне

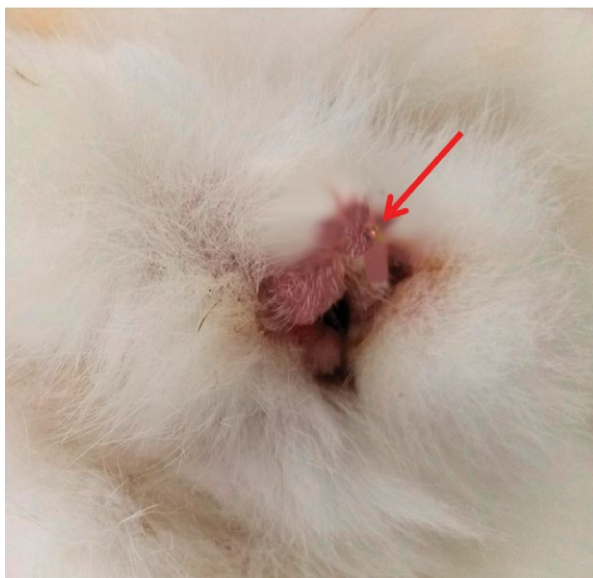


Рис. 6. Внешний вид зажившего свища с частичной эпителизацией наружного отверстия (обозначено стрелкой)

Fig. 6. External appearance of a healed fistula with partial epithelialization of the external opening (indicated by an arrow)

свища с отсутствием эпителиальной выстилки и признаков соединительной ткани, наличием в просвете небольшого количества лейкоцитарно-некротического экссудата (окраска гематоксилином и эозином, рис. 7a); значительное разрастание коллагеновых волокон соединительной ткани по периферии (красный цвет при окраске по Ван-Гизону, рис. 7b), подтвержденное гистологическими препаратами при окраске по Маллори (коллаген окрашен в ярко-синий цвет, рис. 7c); большое количество ретикулярных волокон (черный цвет) во вновь образованной соединительной ткани, а также их остатки (в небольшом количестве) среди воспалительного инфильтрата в зоне некроза (окраска серебрением, рис. 7d).

В контрольной группе животных после лазерного воздействия у большинства животных в течение 3–4 суток сохранялось незначительное серозное отделяемое из обработанного свищевого канала (в виде капелек с промоканием близлежащей шерсти экссудатом). Внешне все животные были активны, отличались хорошим аппетитом и достаточной мобильностью. Инфильтрация тканей и болезненность в зоне вмешательства при пальпации с реакцией животных на дигитальную пальпацию исчезли у животных контрольной группы на $6,8 \pm 1,2$ суток. Отторжение струпа в зоне кожного отверстия бывшего свища происходило к 7–8-м суткам послеоперационного периода. При гистологическом исследовании тканей на 7-е сутки у животных контрольной группы в зоне свища были выявлены: более выраженные зоны очагового некроза тканей с признаками острого воспаления и отсутствием эпителиальной выстилки практически на всем протяжении свищевого хода, заполнение его лейкоцитарно-некротическим экссудатом (окраска гематоксилином и эозином,

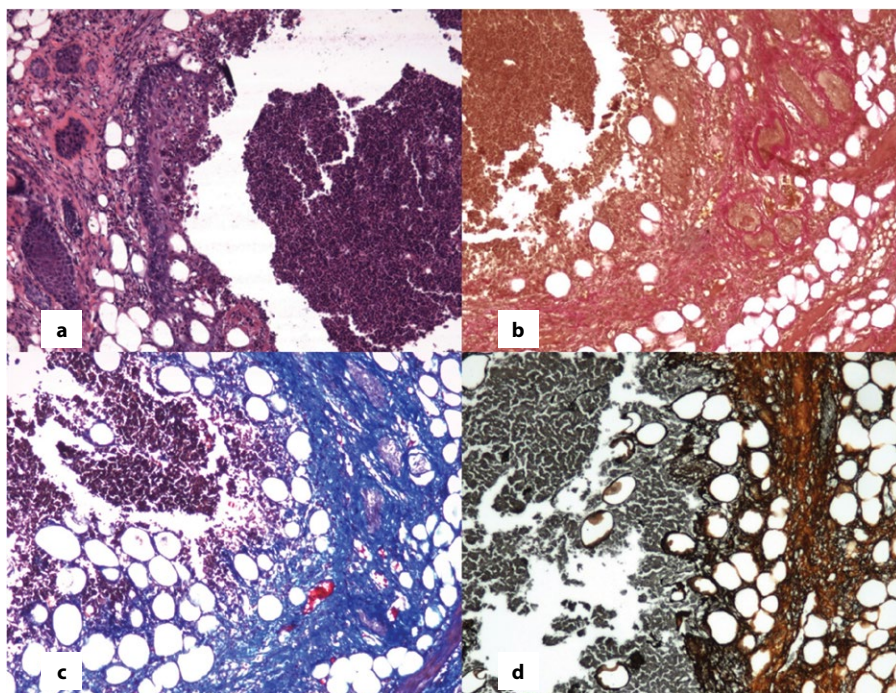


Рис. 7. Изменения в тканях в зоне устья свища у животных основной группы (7-е сутки после проведенного лечения): а – окраска гематоксилином и эозином; б – окраска по Ван-Гизону; с – окраска по Маллори; d – окраска серебрением. Ув. $\times 100$

Fig. 7. Changes in tissues in the fistula mouth area in animals of the main group (7th day after treatment): a – hematoxylin and eosin staining; b – Van Gieson staining; c – Mallory staining; d – silvering staining. Magnification $\times 100$

рис. 8a); отсутствие на периферии свища вновь образованной соединительной ткани (окраска по Ван-Гизону – красным цветом окрашены коллагеновые волокна предсуществующей соединительной ткани в небольшом количестве, рис. 8b); отсутствие в дистальном отделе свища при окраске по Маллори коллагеновых волокон вновь образованной соединительной ткани (синим цветом окрашены коллагеновые волокна в небольшом количестве предсуществующей соединительной ткани, рис. 8c); остатки разрушенных ретикулярных волокон в крае свища и в составе воспалительного экссудата (при импрегнации серебром, рис. 8d).

Уже на 7-е сутки при комбинированном использовании лазера длиной волны 1560 нм, фибринового клея и препарата L-PRP выявлено, что толщина пучков коллагеновых волокон в области регенерации свища у животных основной серии составила 6–8 мкм (в среднем $7,3 \pm 0,7$ мкм). Межпучковые пространства составили от 12 до 18 мкм (в среднем $14,4 \pm 1,2$ мкм). В группе сравнения с использованием лазера 1560 нм в моноварианте толщина пучков коллагеновых волокон в месте заживления свища составила 3–5 мкм (в среднем $3,9 \pm 0,6$ мкм), достоверно отличаясь от основной группы ($p < 0,05$). Межпучковые пространства в группе контроля составили от 28 до 35 мкм (в среднем $31,1 \pm 1,4$ мкм, $p < 0,001$). Таким образом, при использовании

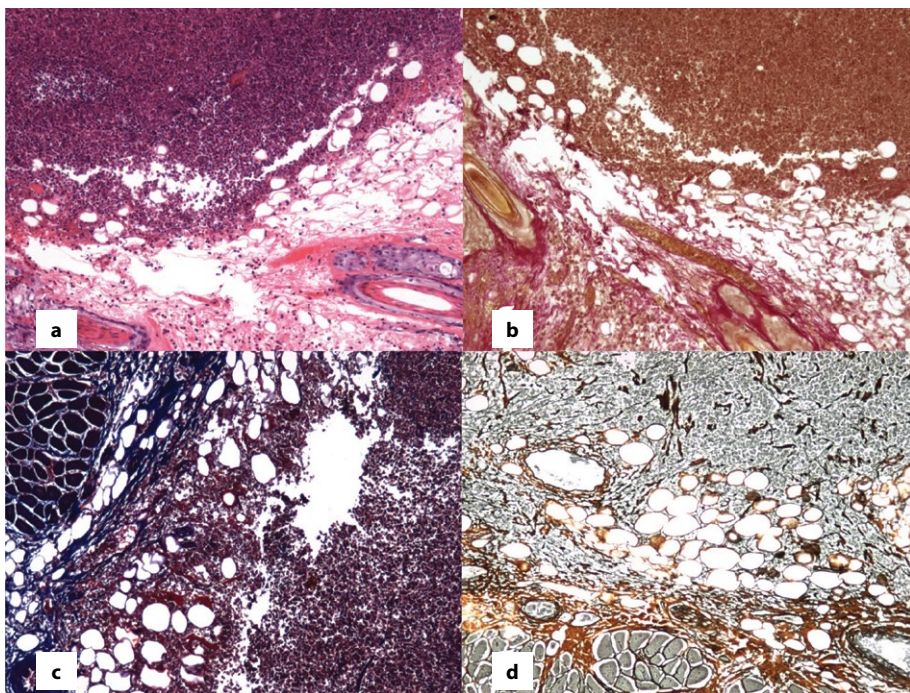


Рис. 8. Изменения в тканях в зоне устья свища у животных контрольной группы (7-е сутки после проведенного лечения): а – окраска гематоксилином и эозином; б – окраска по Ван-Гизону; с – окраска по Маллори; d – окраска серебрением. Ув. $\times 100$

Fig. 8. Changes in tissues in the fistula mouth area in animals of the control group (7th day after treatment): a – hematoxylin and eosin staining; b – Van Gieson staining; c – Mallory staining; d – silvering staining. Magnification $\times 100$

фибринового клея, лазера и препарата L-PRP уже на 7-е сутки после вмешательства толщина пучков коллагеновых волокон была больше, а межпучковые пространства меньше, чем при использовании только лазера ($p < 0,05-0,001$), это свидетельствует о том, что скорость и качество формирующейся соединительной ткани статистически достоверно выше в опытной группе.

К 15-м суткам после проведенного лечения в основной группе у всех животных констатировано полное заживление свища. При окраске гематоксилином и эозином к этому сроку в препаратах визуализируется заживший свищевой ход (просвет его не определяется). Признаков остатков эпителиальной выстилки свища в зоне регенерации не наблюдается. На протяжении бывшего хода выявлена хорошо развитая грубоволокнистая соединительная (фиброзная) ткань, по периферии которой видны сохраненные мышечные волокна с умеренно выраженными дегенеративно-дистрофическими изменениями. Воспалительная инфильтрация отсутствовала (рис. 9а). При окраске препаратов по Ван-Гизону в зоне бывшего свища наблюдались хорошо сформированные коллагеновые волокна соединительной ткани (красного цвета) и дистрофичные мышечные волокна (оранжево-коричневого цвета) (рис. 9б). При окраске препаратов серебрением в зоне бывшего свища выявлены хорошо

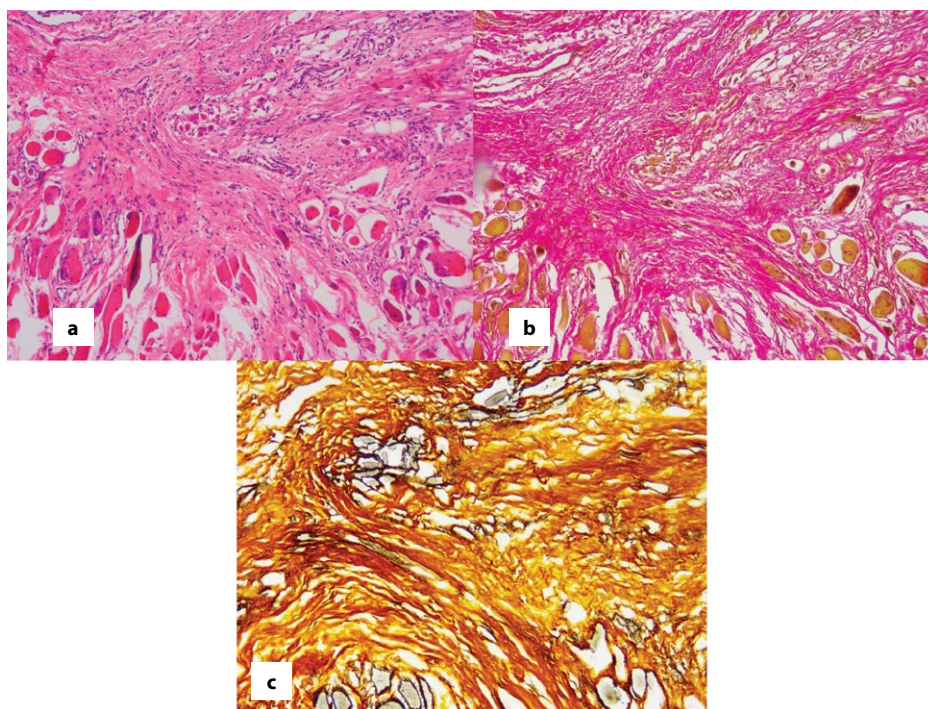


Рис. 9. Изменения в тканях в зоне устья свища у животных основной группы (15-е сутки после проведенного лечения): а – окраска гематоксилином и эозином; б – окраска по Ван-Гизону, ув. $\times 100$; в – окраска серебрением, ув. $\times 200$

Fig. 9. Changes in tissues in the fistula mouth area in animals of the main group (15th day after treatment): a – hematoxylin and eosin staining; b – Van Gieson staining, magnification $\times 100$; c – silvering staining, magnification $\times 200$

сформированные коллагеновые волокна соединительной ткани (окрашены желто-коричневым цветом), ретикулярные волокна перимизия (окрашены черным цветом) вокруг сохранных дистрофичных мышечных волокон сфинктера (рис. 9с).

К 15-м суткам у 75% животных контрольной серии, несмотря на клинические признаки закрытия свища, полной регенерации по всей длине бывшего свищевого хода не наблюдалось. При окраске гематоксилином и эозином к этому сроку в препаратах в зоне бывшего свищевого хода сохранялись участки его просвета с остатками эпителиальной выстилки и некротических масс (рис. 10а). При этом в отличие от основной серии в контроле волокна соединительной ткани были более тонкие и располагались более рыхло, среди них еще сохранялась сосудистая сеть от предшествующей грануляционной ткани. Среди волокон наблюдались единичные клетки воспаления, что говорит о более медленной регенерации. Об этом же свидетельствовала оценка гистологических препаратов, окрашенных по Ван-Гизону, выявившая в компетентной зоне более тонкие коллагеновые волокна соединительной ткани (красного цвета), дистрофичные мышечные волокна сфинктера (оранжево-коричневого цвета) с сохраняющимися клетками лимфогистиоцитарного ряда, участвующими в процессах репарации и регенерации (рис. 10б). При окраске с помощью серебрения в зоне

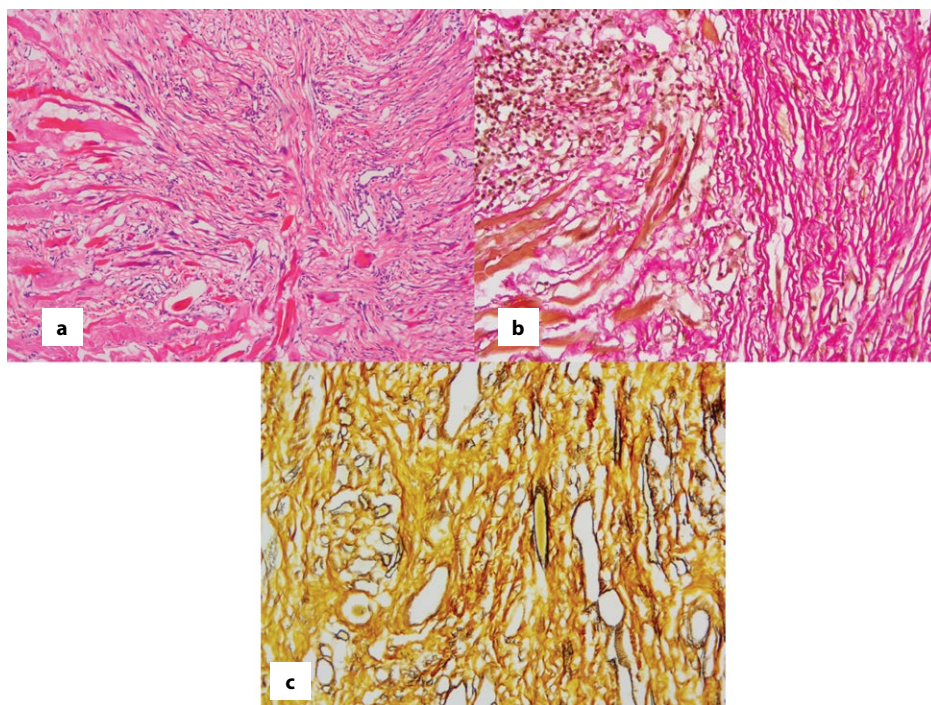


Рис. 10. Изменения в тканях в зоне устья свища у животных контрольной группы (15-е сутки после проведенного лечения): а – окраска гематоксилином и эозином; б – окраска по Ван-Гизону, ув. $\times 100$; в – окраска серебрением, ув. $\times 200$
Fig. 10. Changes in tissues in the fistula mouth area in animals of the control group (15th day after treatment): a – hematoxylin and eosin staining; b – Van Gieson staining, magnification $\times 100$; c – silvering staining, magnification $\times 200$

формирующегося рубца выявлены сохранившаяся капиллярная сеть от предшествующей грануляционной ткани, ретикулярные волокна (коричнево-черного цвета) и коллаген (желто-коричневого цвета) (рис. 10с).

И в этом сроке по данным морфологического исследования области бывшего свищевого хода выявлено, что у животных основной группы толщина пучков коллагеновых волокон в месте заживления свища в 1,87 раза больше, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Причем в основной группе животных ширина межпучковых пространств была в 2,16 раза меньше, чем в контрольной серии ($p < 0,001$), что свидетельствует о более выраженном и ускоренном регенерационном процессе при использовании разработанного комбинированного метода лечения.

На 20-е сутки послеоперационного периода клинически и морфологически в обеих группах наблюдения отмечена полная регенерация зоны свищевого хода с отсутствием достоверных различий по данным морфометрии при специальной оценке восстановления тканей.

Таким образом, клиническое заживление свища у всех животных основной группы наступало к 5–6-м суткам, в контрольной группе животных – к 7–8-м суткам

послеоперационного периода. Морфологическая оценка области бывшего свищевого хода установила полную регенерацию тканей у животных основной группы к 15-му дню, а контрольной группы – к 20-му дню послеоперационного периода с более высокими уровнем и скоростью восстановления соединительной ткани при использовании разработанного метода лечения.

■ ВЫВОДЫ

1. Для экспериментальной хирургии предлагается простой и эффективный, с высоким уровнем воспроизводимости, метод моделирования трансфинктерного свища прямой кишки у лабораторного животного.
2. Характеризующийся последовательностью фаз формирования патологического процесса с конкретными морфологическими признаками, метод моделирования позволяет к 30-м суткам получить функционирующий чресфинктерный свищ прямой кишки с полной эпителизацией и наличием хронического воспаления параректальных тканей.
3. Сравнительный анализ применения в эксперименте разработанного метода малоинвазивного лечения, включающего лазерную термоабляцию ректального свища в комбинации с использованием фибринового клея и препарата L-PRP, свидетельствует о преимуществах данной технологии в сравнении с изолированной лазерной обработкой свищевого хода, что позволяет рекомендовать его для использования в клинической практике.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Shelygin Yu.A., Achkasov S.I., Blagodarni L.A. (2014) *Handbook of coloproctology*. Moscow: Lit-Terra. (in Russian)
2. *The ASCRS Manual of Colon and Rectal Surgery* (2019). 3rd ed. by S.R. Steele, T.L. Hull, N. Hyman, et al. Springer. Pp. 189–201.
3. Denisenko E.V. Rectal fistulas: Current state of the problem, directions of surgical treatment (literature review). *News of surgery*. 2023;31(5):383–396. doi: 10.18484/2305-0047.2023.5.383 (in Russian)
4. Shakhrai S.V. Modeling of extrasphincteric fistula of the rectum in an experiment. *Medical Journal*. 2012;3:131–135. (in Russian)
5. Shakhrai S.V., Gain Yu.M. (2015) *Minimally invasive and hospital-replacing technologies in anorectal surgery*. Minsk: DoctorDesign. (in Russian)
6. A method for modeling a rectal fistula in a laboratory animal. Patent for invention of the Republic of Belarus No. 23703 (2022) / Yu.M. Gain, V.L. Denisenko, E.V. Denisenko, S.V. Shakhrai, K.G. Tsyplakov, V.A. Zhurba, M.Yu. Gain, I.A. Kovalev, M.N. Medvedev, I.V. Samsonova, N.V. Denisenko / State Committee on Science and Technology of the Republic of Belarus; National Center for Intellectual Property // application a 20200227; Priority 10/08/2020; Registered in the state. register of inventions 02/28/2022 / *Official Bulletin: inventions, utility models, industrial designs, topologies and integrated circuits*. 2022;2(145):59. (in Russian)
7. Gain M. Laser technologies in the complex treatment of hemorrhoids and its complications (experimental clinical study) (Dissertation ... candidate of medical sciences). Minsk, 2015. (in Russian)
8. Gain Yu., Bordakov P., Shakhrai S., et al. Immunohistochemical Assessment of the Possibility of Using a Number of Regenerative Technologies and High-Intensity Laser Radiation in Chronic Perineal Wounds Treatment. *Surgery. Eastern Europe*. 2024;11(1):13–37. <https://doi.org/10.34883/PL.2024.13.1.016>
9. Method of surgical treatment of rectal fistulas. Eurasian patent for invention No. 045682 B1 / Yu.M. Gain, E.V. Denisenko, V.L. Denisenko, S.V. Shakhrai, M.Yu. Gain, K.G. Tsyplakov, N.V. Denisenko / Eurasian Patent Office // application 202193098; Priority 11/10/2021; date of publication and issue of the patent 12/15/2023. Moscow: EPO, 2023. (in Russian)
10. Republican sanitary-hygienic and sanitary-anti-epidemic rules and regulations. Safety of working with microorganisms of pathogenicity groups 3 and 4 and helminths. Sanitary rules SP 17-129 RB 2000. Minsk: Ministry of Health of the Republic of Belarus, 2002. (in Russian)
11. Republican sanitary norms, rules and hygienic standards. Design, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivariums). Sanitary rules and regulations 2.1.2.12-18-2006. Minsk: Ministry of Health of the Republic of Belarus, 2006. (in Russian)