

УДК: 616.352-003.93-085-031.84:615.454.1:547.992.2

*Пронина А. С., Суворова Г. Н., Кулакова О. В., Кривопалова М. А.*

**РЕГЕНЕРАЦИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ НАРУЖНОГО СФИНКТЕРА ПРЯМОЙ КИШКИ В УСЛОВИЯХ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ МАЗИ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

*Самарский государственный медицинский университет, Самара,  
Российская Федерация*

---

*Аннотация.* Целью исследования является изучение особенностей регенерации мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки в условиях лечебного воздействия пелоидами.

Материал и методы. Работа проведена на 40 половозрелых лабораторных крысах-самцах, которых разделили на 2 группы: 1 — группа с повреждением наружного сфинктера прямой кишки и 2 — экспериментальная, с повреждением сфинктера и лечением места повреждения мазью, содержащей пелоидные вещества. Полученный материал изучен с помощью световой, электронной микроскопии и с применением моноклональных антител к маркеру клеточной пролиферации Ki-67.

Основные результаты. После применения в качестве лечебного вещества пелоидных препаратов в регенерации мышечной ткани наружного сфинктера проявляются некоторые особенности. В период воздействия препаратом в интерстиции появляются тканевые базофилы, в промежуточной зоне гибель мышечных волокон происходит в меньшем объеме, а в зоне повреждения на месте разрушенных волокон появляются молодые мышечные волокна, сохраняющие жизнеспособность. Темп развития соединительной ткани в экспериментальной группе меньше, чем в контроле, что сказывается на конечном результате регенерации. В конце проведенного эксперимента заполнение мышечного дефекта заканчивается, объем рубцовой ткани на 10% меньше, чем в контроле.

*Ключевые слова:* наружный сфинктер прямой кишки, скелетная мышечная ткань, регенерация, пелоиды.

*Pronina A. S., Suvorova G. N., Kulakova O. V., Krivolapova M. A.*

**REGENERATION OF THE MUSCLE TISSUE OF THE EXTERNAL SPHINCTER OF THE RECTUM UNDER CONDITIONS OF APPLICATION OF AN OINTMENT BASED ON HUMIC ACIDS (EXPERIMENTAL MORPHOLOGICAL STUDY)**

*Samara State Medical University, Samara, Russian Federation*

---

*Abstract.* The aim of the work is to study the characteristics of the regeneration of muscle tissue of the external sphincter of the rectum under the conditions of therapeutic exposure to peloids.

**Material and methods.** The work was carried out on 40 mature laboratory male rats, which were divided into 2 groups: 1 — group, with damage to the external sphincter of the rectum and 2 — experimental, with damage to the sphincter and treatment of the damage site with an ointment containing peloid substances. The obtained material was studied using light and electron microscopy and using monoclonal antibodies to the cell proliferation marker Ki-67.

**Main results.** After using peloid preparations as a medicinal substance, some features appear in the regeneration of the muscle tissue of the external sphincter. During the period of exposure to the drug, tissue basophils appear in the interstitium, the death of muscle fibers in the intermediate zone occurs to a lesser extent, and in the damage zone, in place of the destroyed fibers, young muscle fibers appear that retain viability. The rate of development of connective tissue in the experimental group is lower than in the control group, which affects the final result of regeneration. At the end of the experiment, the filling of the muscle defect ends, the volume of scar tissue is 10% less than in the control.

*Keywords:* external rectal sphincter, skeletal muscle tissue, regeneration, peloids.

## ВВЕДЕНИЕ

В центре внимания современной проктологии стоит проблема восстановления структуры прямой кишки и ее замыкательного аппарата после различного типа оперативных мероприятий. Для разработки способов реконструктивно-пластических вмешательств в этой области необходимо понимание механизмов реактивности и регенераторных потенций мышечной ткани, образующих сфинктеры, с учетом специфики выполняемой ими функции.

Сфинктерное устройство анального отдела прямой кишки, и особенно — наружный сфинктер, образованный скелетной мышечной тканью, имеет ключевое значение в герметизации пищеварительной трубки. Сохраняя статус поперечно-полосатой скелетной мышечной ткани, мышечная ткань наружного сфинктера, без сомнения, имеет особенности, связанные не только с выполнением сфинктерной функции, но также с особенностями кровоснабжения, иннервации и фиксации мышечных волокон.

Вопросы регенерации мышечной ткани и ее реактивности в различных условиях широко обсуждаются в классической гистологической литературе [1–4]. При этом разработка способов, стимулирующих процесс регенерации, остается наиболее актуальной проблемой в медицине и биологии.

Поиск новых факторов стимуляции регенераторных процессов ведется в нескольких направлениях. Многочисленные работы посвящены изучению различных факторов: физического воздействия [5–7], физической нагрузки [8], а также биотических факторов [9].

В последние годы в клинической практике для стимуляции восстановления структурной организации тканей стали использоваться биологически активные препараты, среди которых большую популярность приобрели поливитаминные и макронутриентные препараты. Однако клиницисты отмечают, что большинство из них содержит в качестве основного ингредиента такие вещества как стероиды, анаболики, которые могут приводить к различным аллергическим реакциям и другим негативным реакциям [10].

Альтернативой этим препаратам, без упомянутых побочных эффектов, является группа натуральных гуминовых соединений, которые образуются в результате биохимических превращений животных и растительных остатков под воздействием климатических факторов и микроорганизмов. Эти натуральные соединения выпускаются в различных формах (растворы, суппозитории, мази), нейтральны для организма, не токсичны, обладают высокой биологической активностью и не провоцируют аллергических реакций. Широкий спектр терапевтических эффектов гуминовых кислот объясняется их многомерной молекулярной структурой, стохастичностью и архитектурным беспорядком. Их макромолекулы включают как электронодонорные, так и электроноакцепторные заместители, которые способны образовывать комплексы с переносом заряда [11, 12].

Научные данные позволяют прогнозировать терапевтическую активность пелоидов гуминовой кислоты на регенерацию поперечнополосатой мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки.

Целью данного исследования было изучение посттравматической регенерации ткани скелетных мышц после экспериментальной гиперэкстензии каудальной части прямой кишки в условиях терапевтического воздействия пелоидов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на белых лабораторных крысах-самцах в возрасте 8 месяцев, массой 300–350 г с соблюдением требований приказа Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил лабораторной практики». Протокол исследования одобрен локальным Комитетом по биоэтике ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, решением № 195 от 10.10.2018. Животные были разделены на 2 группы: контрольную и экспериментальную, животные последней группы после чрезмерного растяжения получали местное лечение суппозиторием в течение 7 дней. Повреждение сфинктерного аппарата прямой кишки проводили с использованием модели перерастяжения анального отверстия. Забор материала проводили на 3-и, 5-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки. После стандартной гистологической обработки получали срезы, окрашенные гематоксилином и эозином. Для оценки пролиферативных процессов проведено иммуногистохимическое исследование с применением моноклональных антител к маркеру клеточной пролиферации Ki-67 (Dako, Дания), которое осуществляли на парафиновых срезах с использованием стандартного протокола системы визуализации EnVision FLEX. Микроскопию и анализ гистологических и иммуногистохимических препаратов проводили с использованием светового микроскопа Leica DM2000 (Германия), снабженного цифровой камерой и программой для проведения линейных измерений.

Электронно-микроскопическое изучение материала проводили в соответствии со стандартным протоколом, с заливкой в смесь эпоновых смол. Срезы просматривали на просвечивающем электронном микроскопе Hitachi HT7700 Exalens (Япония) в лаборатории электронной микроскопии междисциплинарного Центра аналитической микроскопии Казанского федерального университета.

Для лечения применяли гуминовые кислоты в форме суппозиториев, изготавливаемых на суппозитарной машине. Гуминовые кислоты извлекают из пелоидов с помощью запатентованной методики (Аввакумова Н. П. и др., 2011).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Повреждение наружного сфинктера прямой кишки путем перерастяжения приводит к каскадной последовательности процессов, характерных для поврежденной скелетной мышечной ткани. В первые сутки возникает отек соединительнотканного компонента мышцы, перерастянутые мышечные волокна пересокращаются, на 3-и сутки обнаруживаются волокна с признаками ценкеровского некроза. В таких волокнах ядра пикнотизируются, миофибриллы склеиваются, митохондриальный аппарат разрушается. Одновременно возникает внутриклеточный отек, остатки канальцев эндоплазматической сети расширяются, органоиды могут выбрасываться в интерстициальное пространство.

В это же время запускается механизм освобождения мышцы от клеточного детрита — зона повреждения заполняется лейкоцитами и макрофагами, которые начинают процесс воспаления и очищения сфинктера от разрушенных мышечных волокон. Одновременно с разрушительными процессами в мышечной ткани начинаются процессы регенерации. В частично поврежденных мышечных волокнах ядра могут скапливаться, формируя структуры, которые в гистологической литературе обозначаются как так называемые мышечные почки, или могут скапливаться в виде цепочек под плазмолеммой. Эти ядра светлые, богаты эухроматином, что, безусловно, свидетельствует о начале компенсаторных процессов, происходящих в мышечных волокнах. На 3–5-е сутки обнаруживаются миосателлитоциты, отделяющиеся от частично поврежденных, пока сохраняющих жизнеспособность мышечных волокон. Иммуногистохимической реакцией на Ki-67 обнаруживаются митотически делящиеся миобласты; электронно-микроскопически уже на 7-е сутки обнаруживаются молодые мышечные волокна, некоторые из которых обеспечивают частичную регенерацию мышечной ткани. Однако большая часть молодых волокон, которые, по-видимому, не находят в системе сфинктера иннервации, разрушается, а все пространство заполняется соединительной тканью, которая к 30-м суткам реорганизуется в рубец.

В итоге поврежденная зона сфинктера образована большим количеством плотной соединительной ткани с редко расположенными отдельными мышечными волокнами в соотношении 74,98% к 25,02% соответственно. В экспериментальной группе животных, которые в течение 7 дней получали местное лечение суппозиториями, содержащими пелоидные вещества, механизмы повреждения и восстановительных процессов в сфинктере протекают принципиально идентично контролю. Вместе с тем, несмотря на специфичную для скелетной мышечной ткани последовательность процессов деструкции и последующей регенерации, в экспериментальной группе отмечен ряд особенностей. В первую очередь это проявляется в том, что в период воздействия препаратом в интерстиции появляются тканевые базофилы. Гибель мышечных волокон в промежуточной (приранево́й) зоне происходит в меньшем объеме, а в зоне повреждения на месте разрушенных волокон появляются молодые мышечные волокна, сохраняющие жизнеспособность.

Область дефекта мышечной ткани, так же как в контроле, заполняется мало дифференцированной грануляционной тканью, однако темп развития соединительной ткани в экспериментальной группе меньше, чем в контроле, что сказывается на конечном результате регенерации.

До поздних сроков восстановления в сохранившихся мышечных волокнах наблюдаются ядерные цепочки и утолщенные участки в мышечных волокнах, что свидетельствует о длительной перестройке мышечной ткани всего сфинктера. К 30-м суткам заполнение мышечного дефекта заканчивается, объем рубцовой ткани к окончанию эксперимента в этой части сфинктера на 10% меньше, чем в контроле.

С учетом того, что регенерация мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки проходит стадию формирования временной структуры замыкательного аппарата, в которой молодые мышечные волокна лишь временно заполняют освободившееся пространство, а впоследствии происходит трансформация провизорной структуры в дефинитивную, можно сделать вывод о том, что пелоидные препараты способствуют оптимизации процесса восстановления сфинктера как целостной структуры.

Возможно, это объясняется появлением тканевых базофилов, которые способствуют улучшению местного тканевого гомеостаза, следовательно, оптимизации микроокружения для молодых мышечных волокон и более оперативному процессу реиннервации мышечной ткани. Область некротических изменений в приранековой зоне в этом случае ограничена, что также обеспечивает более продуктивное восстановление структуры сфинктерного аппарата. Элиминация остатков поврежденных волокон с помощью макрофагов в этом случае облегчается и регенерация сфинктера в целом более эффективна.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют предположить, что гуминовые кислоты, являясь природным фактором, способствуют более полноценному восстановлению структуры наружного сфинктера. Этот эффект требует дальнейшего изучения, с последующим применением в клинической практике.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Данилов Р. К., Клишов А. А. Миосателлитоциты и проблема камбиальности скелетной мышечной ткани // Успехи совр. биол. — 1982. — Т. 93. — № 3. — С. 37–43.
2. Щудло Н. А., Щудло М. М., Кононович Н. А. Гистоморфометрическая характеристика скелетной мышцы, регенерирующей после закрытого частичного раздавливания // Морфология. — 2014. — Т. 146. — № 4. — С. 59–63.
3. Шперлинг И. А., Одинцова И. А., Шулепов А. В. и др. Особенности регенерационного гистогенеза скелетных мышц в области сдавления при экспериментальной компрессионной травме // Клиническая патофизиология. — 2021. — Т. 27. — № S3. — С. 27.
4. Michele D. E. Mechanisms of skeletal muscle repair and regeneration in health and disease. FEBS J. 2022; 289(21):6460–6462. DOI: 10.1111/febs.16577. 35929418
5. Плаксина Л. Н., Ухов Ю. И. Влияние гелий-неонового лазера на процесс посттравматического восстановления скелетной мышцы // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. — 2001. — № 1–2. — С. 67–71.

6. Булякова Н. В., Азарова В. С. Регенерационная способность мышечной ткани и состояние тимуса у облученных крыс в условиях пролонгированного воздействия излучения гелий-неонового лазера // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. — 2004. — № 3. — С. 280–293.
7. Тулаева О. Н., Бовтунова С. С. Репаративная регенерация поперечнополосатой скелетной мышечной ткани при воздействии некоторых физических факторов // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ: реабилитация, врач и здоровье». — 2014. — № 1(13). — С. 13–15.
8. Морозов В. И., Сакута Г. А., Калинин М. И. Морфологические и биохимические аспекты повреждения и регенерации скелетных мышц при физических нагрузках и гиподинамии // Морфология. — 2006. — № 3. — С. 88–96.
9. Стадников А. А., Шевлюк Н. Н. Стволовые клетки и репаративная регенерация в постнатальном онтогенезе млекопитающих // Морфология. — 2006. — Т. 130. — № 6. — С. 84–88.
10. Бахмейер М., Смоленский А. В., Митюшкина О. А. Профессиональные риски в спорте высших достижений // Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал. — 2015. — № 3. — DOI: <https://doi.org/10.12737/12131>
11. Верба О. Ю. Особенности механизмов саногенетического влияния иловых сульфидных пелоидов при вертеброгенных дорсопатиях: автореф. дис. ... д. мед. наук: 14.00.16 / Науч. центр клин. и эксперим. медицины СО РАН. — Новосибирск, 2005. — 29 с.
12. Убашев И. О. Природные лекарственные средства при повреждении органов и тканей: автореф. дис. ... д. биол. наук / Бурят, гос. с.-х. акад. — Улан-Удэ, 1997. — 47 с.

УДК 57.044: 611.018.8

*Разенкова В. А., Кирик О. В., Никитина И. А., Коржевский Д. Э.*

## **ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ ХЛОРИДА ГАДОЛИНИЯ (III) НА СОСТОЯНИЕ МИКРОГЛИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И КЛЕТОК КОЛМЕРА**

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург,  
Российская Федерация*

---

*Аннотация.* Целью работы является изучение влияния предполагаемого ингибитора макрофагов — хлористого гадолиния, на микроглию и макрофаги барьерных областей головного мозга (включая субфорникальный орган) у спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR.

Методика работы: животным вводили треххлористый гадолиний в концентрации 7 мг/кг дважды с интервалом 24 часа. Взятие материала для исследования производили через 48 часов после первого введения. Выявление микроглии/макрофагов ЦНС проводили с использованием иммуногистохимической реакции на Iba-1.