

2. *Наумов Н. П., Карташев Н. Н.* Зоология позвоночных. Ч. 1. Низшие хордовые, бесчелюстные, рыбы, земноводные. М.: Высшая школа, 1979. 333 с.
3. *Шевлюк Н. Н.* Сравнительная гистология мужской репродуктивной системы позвоночных. Оренбург: Изд-во ОрГМУ, 2017. 190 с.
4. *Шмальгаузен И. И.* Основы сравнительной анатомии. М.: Советская наука, 1947. 540 с.
5. *Speakman J. R.* The physiological costs of reproduction in small mammals. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2008; 363:375–398.
6. *Lombardi J.* Comparative vertebrate reproduction. New York: Springer, 1998. 469 p.
7. *Ovalle W. K., Nahirney P. C.* Netters Essential Histology. Philadelphia, 2008. 493 p.
8. *Догель В. А.* Олигомеризация гомологичных органов как один из главных путей эволюции животных. Л.: Изд-во ЛГУ, 1954. 368 с.
9. *Полянский Ю. И.* Полимеризация и олигомеризация гомологичных органов в эволюции // Развитие эволюционной теории в СССР (1917–1970-е годы) / Отв. ред. С. Р. Микулинский и Ю. И. Полянский. Л.: Наука. Ленинградское отделение, 1983. С. 373–379.

УДК: 616.311-089.843-031:616-003.9-092.4

^{1,2}Шибяев А. Н., ^{1,2}Павлова Ю. В., ¹Шестакова В. Г., ¹Павлов Р. Д.,
¹Терехов В. М.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ И ПРИЖИВЛЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*¹Тверской государственной медицинской университет, Тверь,
Российская Федерация*

²ГБУЗ МО МОНИКИ им М. Ф. Владимирского, Москва, Российская Федерация

Аннотация. Целью работы являлось изучение возможности краевой реваскуляризации и дальнейшего приживления слизистой оболочки полости рта в эксперименте.

Методика исследования заключалась в заборе двух трансплантатов слизистой оболочки полости рта диаметром 6 мм с помощью устройства для Punch-биопсии и их последующей фиксации в межлопаточной области с предварительным формированием полнослойной кожной раны. В эксперименте использовались 14 самцов беспородных белых крыс. Фиксация фрагментов эпителия слизистой оболочки щеки осуществлялась двумя способами: один из фрагментов — эпителием вверх, второй — торцом фрагмента, предварительно свернутым в трубку эпителием наружу. С целью защиты и мониторинга состояния трансплантатов на место полнослойной раны имплантировали раневую камеру диаметром 2 см. Приживление трансплантатов оценивали на 15-е сутки визуально и гистологически.

Основные результаты, полученные при гистологическом исследовании, показали, что приживление произошло со всеми трансплантатами, вне зависимости от способа их расположения, на гистологических слайдах отсутствовали признаки дистрофических изменений и некроза.

Ключевые слова: реконструктивная хирургия, трансплантация, экспериментальные животные, морфологическое исследование, ревааскуляризация.

^{1,2}Shibaev A. N., ^{1,2}Pavlova Y. V., ¹Shestakova V. G., ¹Pavlov R. D.,
¹Terekhov V. M.

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE PROCESS OF REVASCULARIZATION AND ENVIRONMENT OF ORAL MUCOSA TRANSPLANT IN RATS

¹Tver State Medical University, Tver, Russian Federation

²Vladimirskiy Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to confirm the possibility of marginal revascularization and further engraftment of the graft obtained from the buccal mucosa of a rat.

The methodology of the work consisted of collecting two grafts of the oral mucosa with a diameter of 6 mm using a Punch biopsy device and their subsequent fixation in the interscapular region with the preliminary formation of a full-thickness skin wound. The experiment used 14 male outbred white rats. Fixation of fragments of the epithelium of the buccal mucosa was carried out in two ways: one of the fragments — with the epithelium facing up, the second — with the end of the fragment, previously rolled into a tube with the epithelium facing out. In order to protect and monitor the condition of the grafts, a wound chamber with a diameter of 2 cm was implanted at the site of the full-thickness wound.

The main results of the work were obtained using histological examination of biopsy material. Both options for the location of the epithelial fragment of the oral mucosa showed excellent engraftment results.

Keywords: reconstructive surgery, transplantation, experimental animals, morphological study, revascularization.

ВВЕДЕНИЕ

Применение аутологичных трансплантатов эпителия в настоящее время является неотъемлемой частью реконструктивной хирургии различных специальностей. Так, например, при устранении различных дефектов кожи или хирургическом лечении более сложных патологий, таких как лимбальная недостаточность или стриктура уретры и мочеоточника, применяются трансплантаты различных видов эпителия в зависимости от патологии [1–3]. Данное направление зарекомендовало себя как достаточно перспективное, способное обеспечить хорошую краткосрочную и долгосрочную результативность лечения, а также характеризующееся низким числом послеоперационных осложнений. Но эффективность данного способа лечения напрямую зависит от квалификации хирурга и создания всех необходимых условий для приживаемости трансплантата. Так, при

реализации данного способа лечения в случаях стриктур мочеточника и уретры специалисты продолжают расходиться во мнениях о необходимости формирования хорошо васкуляризованного ложа для трансплантата [4]. Предполагается, что в случаях, когда невозможно соблюсти необходимые условия для приживаемости трансплантата в виде формирования питающего ложа, допускается фиксация трансплантата торцом к жизнеспособной ткани. В таком случае возможна ранняя реваскуляризация за счет анастомозирования сосудов реципиентной зоны и сосудистой сети собственной пластинки слизистой оболочки полости рта по краю трансплантата [5]. Однако экспериментального обоснования этого феномена до настоящего времени нет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для данного исследования послужили 14 самцов нелинейных белых крыс. Перед началом эксперимента животные осматривались компетентным лицом, ответственным за размещение и уход за животными, и выдерживались на 14-дневном карантине. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Средняя масса животных равнялась 250–300 г. Все экспериментальные исследования проведены с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Директива 2010/63/eu), в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Россия, 2011), Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003), в соответствии с ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» (Межгосударственный стандарт, 2016). Ведение первичной документации осуществлялось в соответствии с принципами Надлежащей лабораторной практики (ГОСТ 33044-2014, Россия). На проведение исследования получено разрешение этического комитета Тверского ГМУ (Протокол от 11.05.2018).

Анестезию проводили введением подкожно Золетила-100 (Virbac, Франция) и Ксиланита (Нита-фарм, Россия) в дозах 4,0 мг/кг и 2,0 мг/кг соответственно. Измерение глубины наркоза контролировали с опорой на стандарты GLP.

Оперативное вмешательство, которое проводили с соблюдением всех правил асептики и антисептики, состояло из двух этапов. Первым этапом производили забор двух фрагментов слизистой оболочки полости рта. Полость рта крысы обрабатывали водным раствором хлоргексидина. После гидропрепаровки перфоратором Dermal Punch осуществляли забор участка слизистой диаметром 6 мм. Перед трансплантацией полученные фрагменты подвергались префабрикации и помещению в изотонический раствор. Вторым этапом осуществлялась фиксация полученных трансплантатов в межлопаточной области с предварительным формированием полнослойной кожной раны диаметром 15 мм, дно раны — *m. carnosus*. Для поддержания влажной среды, ограничения контракции раны и заживления кожным эпителием использовали раневую камеру по методике, описанной К. Nuutila и соавт. [6]. Камеры изготавливали из биосовместимого фотополимера Med 610 методом 3D печати. Внутренний диаметр камеры составлял 12 мм. Камеру фиксировали ко дну раны и краям кожи узловыми швами. Фрагменты слизистой оболочки полости рта располагали двумя вариантами. В первом

случае фрагмент фиксировался эпителием вверх, такой вариант расположения выступал в качестве контроля, так как имеется экспериментальное обоснование приживления трансплантатов, расположенного таким методом [7]. Второй фрагмент располагался торцом таким образом, чтобы обеспечивалась возможность краевого приживления и реваскуляризации именно через торец. Предварительно второй трансплантат сворачивали в трубку эпителием наружу.

В постоперационном периоде животным проводили антибактериальную терапию — 10%-ный раствор Энрофлоксацина 1 мг/кг в течение 7 суток. Перевязки под в/м седацией осуществляли раз в 3 дня. При каждой перевязке проводили визуальную оценку раны — общего состояния, количества и характер экссудата, а также состояние трансплантатов на наличие признаков некроза. Взятие биопсийного материала осуществлялся на 15-е сутки. Срок в 14 суток считается оптимальным для процесса приживления. Если приживления не произойдет, трансплантат будет отторгнут и подвержен некрозу.

Биопсийный материал, взятие которого производили на 15-е сутки, фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине («Биовитрум», Россия), дегидратировали в 8 сменах изопропанола, начиная с 50%-ного водного раствора изопропанола, заливали в парафиновую среду Гистомикс («Биовитрум», Россия) с использованием заливочного модуля ESD-2800 («МедТехникаПоинт», Россия). Тонкие парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм, полученные на полуавтоматическом ротационном микротоме ERM 3100 (Hestion, Австралия), окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое изучение полученного экспериментального материала проводили с помощью микроскопа Olympus CX21 при малом (100×) и большом (400×) увеличении и масляной иммерсии (1000×). Микрофотографии получали с помощью цифровой фотокамеры МС-10 (ЛОМО, Россия), компьютерная обработка полученных снимков осуществлялась в ПО MCview.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологическое исследование показало, что процессу реваскуляризации и дальнейшего приживления подвергались все трансплантаты вне зависимости от способа их расположения. Так, на гистологических слайдах с фрагментами многослойного плоского ороговевающего эпителия щеки крысы, расположенного циркулярно по отношению к окружающей ткани таким образом, чтобы роговой слой клеток был ориентирован наружу (*рис. 1*), отмечается пролиферация клеток трансплантата с формированием слоя кератиноцитов. Что же касается трансплантатов, которые располагались в виде пласта (*рис. 2*), то в них также отмечается пролиферация клеток эпителия и отсутствие дистрофических изменений, что подтверждает их жизнеспособность. На всех гистологических слайдах отмечают такие признаки воспалительного процесса как лейкоцитарная инфильтрация, полнокровие микроциркуляторного русла, интра- и перицеллюлярные отеки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность приживления фрагмента многослойного плоского ороговевающего эпителия щеки крысы как в виде пласта, так и расположенного торцом, что открывает возможности для проведения дальнейших исследований в области реконструктивной хирур-

гии и пересмотра необходимости в формировании питающего ложа как обязательного условия для приживления трансплантата.



Рис. 1. Структура фрагмента многослойного плоского ороговевающего эпителия щеки крысы, расположенного торцом. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. 100



Рис. 2. Структура фрагмента многослойного плоского ороговевающего эпителия щеки крысы, расположенного пластом. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. 100

ЛИТЕРАТУРА

1. *Herskovitz I., Hughes O. B., Macquhae F., Rakosi A., Kirsner R.* Epidermal skin grafting. *Int Wound J.* 2016; 13(Suppl 3):52–56. DOI: 10.1111/iwj.12631
2. *Бездетко П. А., Ильина Е. Н., Наумова О. В.* и др. Особенности формирования роговичного эпителия после пересадки аутоотрансплантата при лимбальной недостаточности в эксперименте // *Офтальмологічний журнал.* 2010. № 1. С. 64–68.
3. *Zimmerman W. B., Santucci R. A.* Buccal mucosa urethroplasty for adult urethral strictures. *Indian J Urol.* 2011;27(3):364–370. DOI: 10.4103/0970-1591.85441
4. *Barbagli G.* When and how to use buccal mucosa grafts in penile and bulbar urethroplasty // *Minerva Urol Nefrol.* 2004; 56:189–203.
5. XIX КОНГРЕСС «МУЖСКОЕ ЗДОРОВЬЕ»: Сб. трудов, 26–28 апреля 2023 г. / Отв. ред. А. А. Камалов.
6. *Nuutila K., Singh M., Kruse C., Philip J., Catterson E. J., Eriksson E.* Titanium wound chambers for wound healing research. *Wound Repair Regen.* 2016; 24(6):1097–1102. DOI: 10.1111/wrr.12472.
7. *Laschke M. W., Vollmar B., Menger M. D.* Inosculation: Connecting the Life-Sustaining Pipelines. *TISSUE ENGINEERING: Part B.* 2009; 15(4). DOI: 10.1089=ten.teb.2009.0252