

Методика создания органной структуры пластического материала для возмещения сквозных дефектов приротовой области в эксперименте

Белорусский государственный медицинский университет

Основой для создания органотипического пластического материала для возмещения сквозных дефектов приротовой области явилась методика формирования плоского эпителилизированного кожного лоскута. В эксперименте изучены особенности формирования пластического материала. Оптимальным является вариант включения в состав пластического материала мышечной ткани на питающей ножке с фиксацией к краям лоскута. Сохранность мышечного компонента пластического материала доказана морфологическими и биохимическими методами.

Ключевые слова: пластический материал; органная структура; сквозные дефекты; приротовая область.

O.P. Chudakov, N.M. Trizna

Experimental study of the organic material designed for a plastic reconstruction of a perioral penetrating deficiencies

Creation of the organotypic plastic material technology for a plastic replacement of perioral region penetrating deficiencies was based on technique of a flat epithelialized dermal flap (O.P. Chudakov, 1975). The aim is to study a technique of formation of the plastic material in animals. The inclusion of the muscular tissue on the pedicle into the structure of the plastic material with fixing to edges of a flap is considered optimal. It is necessity in fixing the lifted muscle to edges of a skin flap because the tension of muscular fibers preserves its function. The morphological and biochemical analyses of the plastic material in animals showed safety of the muscular tissue.

Key words: organotypic plastic material, penetrating deficiencies, perioral region

Проблема пластического возмещения сквозных дефектов приротовой области обусловлена необходимостью воссоздания герметизма ротовой полости, что достигается восстановлением целостности круговой мышцы рта. Основой для создания органотипического пластического материала (ОПМ) явилась методика формирования плоского эпителилизированного кожного лоскута (ПЭКЛ) [4]. Разработка способа создания органотипического пластического материала для возмещения сквозных дефектов приротовой области различной этиологии потребовала детализированного изучения вариантов включения мышечной ткани в состав ПЭКЛ; возможностей приживления и функциональной перестройки мышечной ткани в погружных условиях, а также оценки её жизнеспособности.

Цель исследования: экспериментальное обоснование возможности создания органной структуры пластического материала для возмещения сквозных дефектов приротовой области.

Материал и методы

В работе использованы 56 экспериментальных животных: 24 морские свинки породы «Агути» и «Голландская» весом 300-500 г и 32 кролика породы «Шиншилла» весом 2500-3500 г приблизительно одинакового возраста.

Методика создания ОПМ заключалась в следующем: под местной анестезией 0,25% раствора новокаина или под внутривенным наркозом 10 % раствора тиопентала-натрия в области спинки животного ближе к краниальному концу туловища выкраивался языкообразный кожно-мышечный или кожно-жировой лоскут с питающей ножкой, обращенной к средней линии, размерами от 1,5x3,0 см до 2,0x4,0 см. Взятие аутодермотрансплантата выполнялось от руки с последующим его расщеплением. Донорский участок у морских свинок располагался в области передней брюшной стенки, а у кроликов – на спинке с противоположной стороны ближе к каудальному концу туловища. Закрытие донорского участка осуществлялось мобилизацией краев раны с последующим наложением узловатых швов. Подготовленный расщепленный аутодермотрансплантат (РАДТ) разделялся на две равные части, которые укладывались на раневые поверхности лоскута и материнского ложа и подшивались, отступая от краев последних на 0,3-0,5 см, узловатыми швами в состоянии физиологического натяжения. Образованный таким образом ОПМ возвращался на прежнее место и фиксировался к краям раны узловатыми швами.

При создании органной структуры пластического материала для возмещения сквозных дефектов приротовой области нами изучались различные варианты включения мышечной ткани в состав ПЭКЛ. Первую группу составили 28 животных, у которых сформированный ОПМ включал собственно кожу, подкожную клетчатку и часть *m. latissimus dorsi* на питающей ножке, обращенной к средней линии спинки животного. Вторая группа включала 8 животных, в состав ОПМ включен мышечный трансплантат, выкроенный из *m. latissimus dorsi*, который фиксировался к кожно-жировому лоскуту в состоянии физиологического натяжения.

Морфологическое исследование ОПМ проводилось через 7, 14, 21, 30 суток после его внутритканевого формирования. После визуального осмотра под внутривенным наркозом 10% раствором тиопентала-натрия проводился забор ОПМ, который фиксировался в 10% растворе нейтрального формалина, подвергался проводке через спирты и заливался в парафин. Полученные серийные срезы толщиной 5 микрон окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон.

Для оценки жизнеспособности мышечной ткани, включенной в состав ОПМ на питающей ножке, изучались показатели тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Иссечение ОПМ проводилось на 16-21 сутки после его создания, для чего в асептических условиях под местной анестезией 0,25% раствора новокаина в количестве 10 мл по линии рубца производился разрез кожи с высвобождением созревшего ОПМ, отсекалась питающая ножка. Выделялся и освобождался от соединительнотканых элементов мышечный компонент ОПМ. На рану в области питающей ножки накладывались узловатые швы из полиамида 3-0. В качестве контроля использовалась аналогичная интактная мышца с противоположной стороны у этих же животных.

Для характеристики состояния энергетического обмена исследуемой ткани с помощью полярографа ПУ-1 (РБ) электродом Кларка [3] определяли скорость потребления кислорода (скорость дыхания) кусочками мышечной ткани при окислении эндогенных субстратов *Vэнд*, которая является интегральным показателем, характеризующим пул эндогенных субстратов, состояние мембранных транспорта, активность соответствующих дегидрогеназ и ферментных комплексов дыхательной цепи [1].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере с применением программы Statistica, версия 6.0 (StatSoft, USA) с использованием непараметрического критерия U (Манна-Уитни).

Результаты и обсуждение

При формировании тканевой структуры ОПМ у животных первой группы была выявлена необходимость фиксации поднимаемой мышцы к краям кожного лоскута узловатыми швами в состоянии физиологического натяжения. Возвращение созданного ОПМ в прежнее положение и фиксация его к краям материнского ложа необходимы для создания погружных условий для полного и прочного приживления РАДТ, препятствуя его сокращению, а также обеспечивая натяжение мышечной ткани, которое необходимо для сохранения ее функции мышцы. Пересадка РАДТ на хорошо васкуляризированную мышечную ткань позволила минимизировать риск некроза трансплантата [5]. Приживление РАДТ к прилежащей мышце происходило независимо от вида экспериментального животных.

Морфологическое исследование ОПМ показало, что основная масса мышечной ткани, включенной в состав ОПМ, сохранила свою структуру, а при поляризационной микроскопии четко определялась поперечно-полосатая исчерченность мышцы (рис. 1).

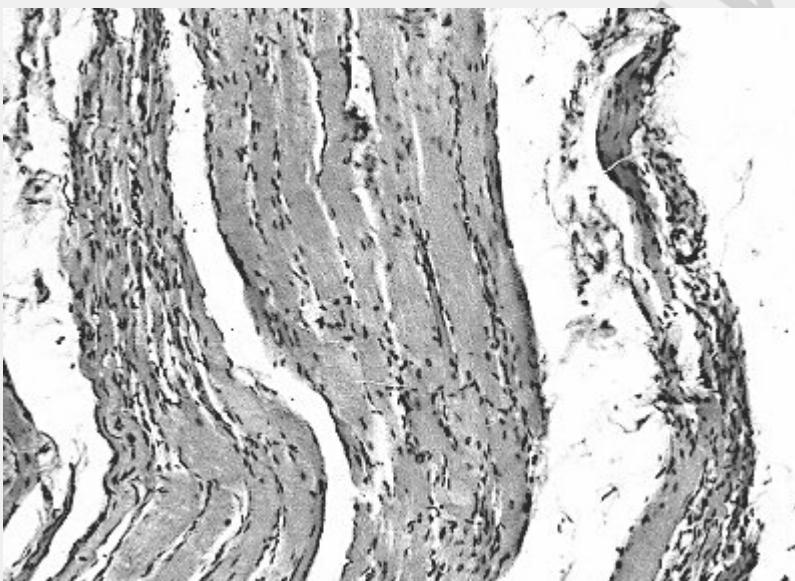


Рис.1. Поперечная исчерченность в мышечных волокнах, умеренно выраженная пролиферация миосателлитов в первой группе опытов на 14-е сутки после создания ОПМ. Окраска: гематоксилин-эозином , ув. Ч 100.

Макро- и микроскопическое изучение пребывания ОПМ в погружных тканевых условиях без сохранения сосудистых и нервных связей у животных второй группы показало, что процесс созревания ОПМ протекает путем патологической регенерации с развитием выраженного воспаления, некрозов и образования фиброзной ткани, что приводит к нарушению структурной организации мышечной ткани. Ожидать восстановления функции мышечного трансплантата в таких опытах не представляется возможным. У всех подопытных животных второй группы отмечались некротические изменения ОПМ. Лишь у одного кролика на 21-е сутки структура ОПМ сохранилась в проксимальной трети, при микроскопическом исследовании сохранившейся части ОПМ во всех полях зрения определялся мионекроз (рис. 2).

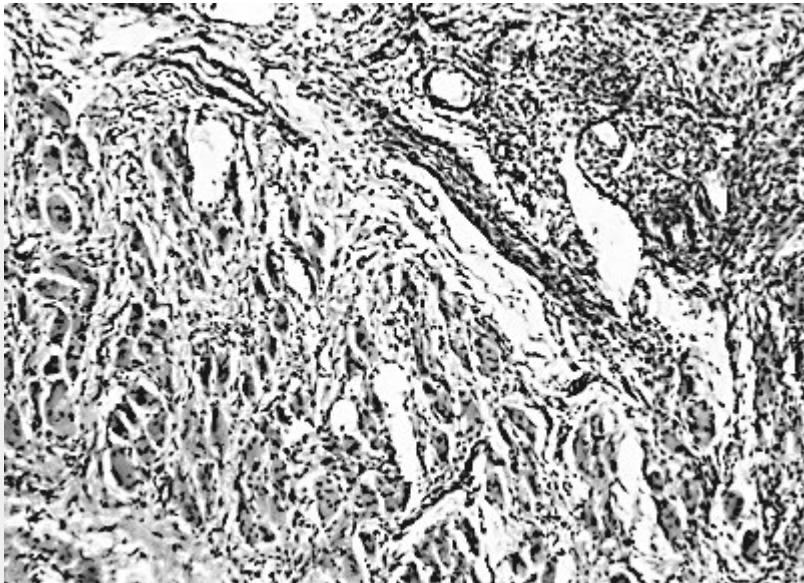


Рис.2. Разделение мышечного трансплантата ОПМ на отдельные фрагменты, с врастанием между мышечными волокнами соединительной ткани во второй группе опытов на 14-е сутки после создания ОПМ. Окраска: гематоксилин-эозин, ув. Ч 100.

Жизнеспособность и функциональная активность трансплантируемой мышечной ткани зависит от уровня аэробных энергетических процессов (тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования), определяемых в значительной степени состоянием микроциркуляторного русла. Исследования показали, что скорость потребления кислорода при окислении эндогенных субстратов мышечной ткани (Vэнд) в контрольной группе животных составила $2,27 \pm 0,43$ нмоль О₂/минЧмг белка. Этот показатель для мышечной ткани в составе ОПМ, на 16-21 сутки после его формирования был несколько ниже и достигал $1,96 \pm 0,34$ нмоль О₂ /минЧмг белка ($p > 0,05$).

Полученные данные подтверждают незначительное снижение в опытных образцах мышечной ткани суммарной активности дегидрогеназ матрикса митохондрий и их дыхательной цепи, что может быть обусловлено патоморфологическими процессами, происходящими при созревании органной структуры ОПМ. В указанные сроки происходит развитие соединительнотканного спайного слоя между составными частями ОПМ. В ответ на операционную травму часть мышечных волокон замещается фиброзной тканью, а регенирирующие мышечные волокна мало дифференцированы и функция их весьма ограничена.

Представленные морфологические изменения при отсутствии достоверных различий изучаемых показателей в опытной и контрольной группах свидетельствует о том, что мышечная ткань, включенная в состав ОПМ на питающей ножке, сохраняет свою жизнеспособность на 16-21 сутки после его создания.

Выполненное экспериментальное исследование дает основание сделать следующие выводы:

1. Реальную возможность построения органной структуры пластического материала для возмещения сквозных дефектов приutowой области обеспечивает включение в состав ПЭКЛ мышечной ткани на питающей ножке.
2. Сохранность мышечного компонента ОПМ обеспечивается правильным выбором области его формирования с учетом расположения мышц, сосудов и нервов;

фиксацией поднимаемой мышцы к краям кожного лоскута; возвращением созданного ОПМ в прежнее положение с фиксацией последнего к краям материнского ложа.

3. Выявленные патоморфологические изменения отражают общность процессов, которые происходят в организме при травме и при созревании органной структуры пластического материала [2]. Приживление расщепленного аутодермопротрансплантата к подлежащей мышечной ткани происходит независимо от вида экспериментального животного и определяется условиями местного тканевого гомеостаза.

4. Длительность созревания органной структуры ОПМ должна составлять не менее 14-18 суток. В этот период создаются наилучшие условия для приживления РАДТ к мышечной ткани, и при этом, сохраняется основная масса мышечных волокон, потенциально способных к регенерации и восстановлению функции. Жизнеспособность мышечного компонента ОПМ подтверждается при изучении аэробного энергетического метаболизма с методом полярографии.

Литература

1. Грицук А. И., Матюхина Т. Г., Коваль А. Н., Сергеенко С. М., Свергун В. Т., Вернер А. И., Грицук Н. А. Митохондриальное окисление и ультраструктура миокарда при инкорпорации радионуклидов цезия // Авиакосмическая и экологическая медицина, 2002 – № 2. – С. 40–44.
2. Калитиевский П.Ф. Макроскопическая дифференциальная диагностика патологических процессов. – М.: Фирма «Миклош»: Инженер, 1993. – 376 с.
3. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / Под ред. Г.М. Франк. – М.: Наука, 1973. – 196 с.
4. Чудаков О.П. Эпителилизированный плоский кожный лоскут – новый пластический материал в восстановительной хирургии челюстно-лицевой области и шеи / Изобретения и рац. предложения в области медицины. – М., 1974. – Вып. 4. - С. 26.
5. Doi K., Hattori Y., Tan S.H., Dhawan V. Basic science behind functioning free muscle transplantation // Clin. Plast. Surg. – 2002. – V. 29, № 4. – P. 483-95.