

Участие жировой ткани в заживлении сквозной операционной раны стенки матки крысы

Н.Б. Тихонова, А.П. Милованов, В.В. Алексанкина, Т.В. Фокина, М.Н. Болтовская, А.П. Алексанкин

ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына, Москва, Россия

Введение. В настоящее время неизвестна роль компонентов жировой ткани в восстановлении поврежденной маточной стенки, хотя некоторые авторы заявляют о положительном влиянии клеточных препаратов из жировой ткани на репарацию поврежденной стенки матки лабораторных грызунов. Между тем стволовые клетки, полученные из жировой ткани, рассматриваются как наиболее перспективные для использования в регенеративной медицине. Цель исследования – провести оценку адипоцитарных компонентов в маточной стенке крыс при заживлении после сквозного хирургического разреза.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 40 самках крыс Спрейг-Дуоли. Животным наносили сквозной продольный разрез на стенку правого рога матки, левый рог служил интактным контролем. Морфологическое исследование маточной стенки проводили ежедневно у пяти животных с 1-х по 7-е и на 15-е сутки. Срезы с парафиновых блоков окрашивали гематоксилином и эозином, а также трихромным красителем по Пикро Маллори. Адипоциты FABP4⁺ и макрофаги CD68⁺ выявляли методами иммуногистохимического анализа. Морфометрическое исследование проводили с помощью системы Leica (Leica, Германия). Обработку результатов выполняли в программе Statistica 12 (StatSoft).

Результаты. Период наиболее активного взаимодействия жировой ткани с поврежденным рогом длился с 3-х по 15-е сутки и совпадал с активизацией макрофагов в зоне заживления. Интактный левый рог матки в процессах взаимодействия с жировой тканью брыжейки не участвовал. Начиная с 3-х суток FABP4⁺ клетки располагались в маточной стенке оперированного рога группами, формируя округлые гнездообразные структуры. Скопления FABP4⁺ клеток локализовались в зоне заживления, около шовного материала и в периметрии вблизи участков прикрепления брыжейки. Динамика показателей площади гнезд различной локализации зависела от локализации и продолжительности заживления. В левом неповрежденном роге FABP4⁺ клетки отсутствовали.

Заключение. Охарактеризованы морфологические аспекты взаимодействия компонентов жировой ткани с поврежденной маточной стенкой в течение первых двух недель после сквозного хирургического разреза рога матки крысы. Результаты исследования свидетельствуют об активном участии клеток адипоцитарного происхождения в процессе заживления сквозного повреждения маточной стенки крыс на самых ранних сроках.

Ключевые слова: матка крысы, гистеротомия, заживление, адипоциты, макрофаги

Для корреспонденции: Наталия Борисовна Тихонова. E-mail: nb-ti@hotmail.com

Для цитирования: Тихонова Н.Б., Милованов А.П., Алексанкина В.В., Фокина Т.В., Болтовская М.Н., Алексанкин А.П. Участие жировой ткани в заживлении сквозной операционной раны стенки матки крысы. Клин. эксп. морфология. 2021;10(4):72–80. DOI: 10.31088/CEM2021.10.4.72-80.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына (№ АААА-А17-117013050049-3).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 20.08.2021. Получена после рецензирования 15.09.2021. Принята в печать 22.09.2021.

The role of adipose tissue in the healing of rat uterine wall after a full-thickness surgical incision

N.B. Tikhonova, A.P. Milovanov, V.V. Aleksankina, T.V. Fokina, M.N. Boltovskaya, A.P. Aleksankin

A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

Introduction. Data about the role of components of adipose tissue in the repair of damaged uterine walls are limited, although a number of authors claim that cell-based drugs from adipose tissue have a positive effect on the repair of damaged uterine walls in laboratory rodents. Meanwhile, stem cells derived from adipose tissue are considered to be the most promising type of cells in regenerative medicine. The aim of the study was to evaluate the adipocyte components in the uterine wall of rats in healing after a full-thickness surgical incision.

Materials and methods. We conducted the study on 40 female Sprague Dawley rats. The animals were subjected to a full-thickness longitudinal incision in the wall of the right uterine horn, with the left one serving as an intact control. We carried out morphological examinations of the uterine walls daily in 5 animals from day 1 to 7 and on day 15. The sections from paraffin blocks were stained with hematoxylin and eosin and Mallory's trichrome staining. Immunohistochemistry detected FABP4⁺ adipocytes and CD68⁺ macrophages. The morphometric study was carried out using the Leica system (Leica, Germany). The results underwent processing in the Statistica 12 software (StatSoft).

Results. We noticed the period of the most active interaction of adipose tissue with the damaged horn to last from day 3 to 15 and coincide with the macrophage activation in the healing zone. The intact left uterine horn was not involved in the interaction processes with the mesenteric adipose tissue. Starting from day 3 FABP4⁺ cells in the uterine wall of the operated horn formed groups, creating rounded nest-like structures. Clusters of FABP4⁺ cells were localized in the healing zone, near the suture material, and in the perimetrium near the mesentery attachment sites. The changes over time of the indicators of the area of cell nests depended on the localization and duration of healing. There were no FABP4⁺ cells in the left intact horn.

Conclusion. We characterized the morphological interaction of adipose tissue with the damaged uterine wall during the first two weeks after a full-thickness surgical incision of the rat uterine horn. The results of the study indicate that adipocytes take an active part in the healing after a surgical incision of the rat uterine wall at the earliest stages.

Keywords: rat uterus, hysterotomy, healing, adipocytes, macrophages

Corresponding author: Natalia B. Tikhonova. E-mail: nb-ti@hotmail.com

For citation: Tikhonova N.B., Milovanov A.P., Aleksankina V.V., Fokina T.V., Boltovskaya M.N., Aleksankin A.P. The role of adipose tissue in the healing of rat uterine wall after a full-thickness surgical incision. Clin. exp. morphology. 2021;10(4):72–80. DOI: 10.31088/CEM2021.10.4.72-80. (In Russ.).

Funding. The study was carried out within the framework of state assignment to A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (No. AAAA-A17-117013050049-3).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 20.08.2021. **Received in revised from** 15.09.2021. **Accepted** 22.09.2021.

Введение

Восстановление поврежденной ткани требует взаимодействия множества типов клеток. Ткани многих органов, таких как кожа [1], костный мозг [2] и молочные железы [3], содержат локальные адипоциты. Жировые клетки секретируют цитокины, регулирующие восстановление гомеостатических стволовых клеточных элементов [1] после повреждения, и бактерицидный пептид – кателицидин [4]. Наиболее изученными функциями клеток жировой ткани являются хранение и расщепление триглицеридов для быстрой продукции жирных кислот в целях обеспечения метаболизма окружающих клеток и тканей. Липолиз в адипоцитах (гидролиз триглицеридов) начинается с активации ограниченной по скорости липазы жирных триглицеридов и высвобождения неэстерифицированных жирных кислот, а также диацилглицеринов [5]. В последующем липазы катализируют гидролиз оставшихся жирных кислот. Введение липидов адипоцитарного происхождения стимулирует иммунные процессы в сальнике [6], а производные липидов эйкозаноиды, такие как простагландины, участвуют в восстановлении поврежденных тканей [7]. Липолиз адипоцитов, их дедифференцировка и миграция в зону кожного повреждения регулируют процесс заживления раны, инициируют воспалительную реакцию, активируют и привлекают макрофаги и обеспечивают последующее восстановление поврежденной зоны [8]. Сведения

о роли компонентов жировой ткани в восстановлении поврежденной маточной стенки в настоящее время отсутствуют, хотя некоторые авторы заявляют о положительном влиянии клеточных препаратов из жировой ткани на репарацию поврежденной маточной стенки лабораторных грызунов [9, 10]. Между тем стволовые клетки, полученные из жировой ткани (ADSC), считаются наиболее перспективным типом клеток в регенеративной медицине [11].

Цель исследования – оценка адипоцитарных компонентов в поврежденной маточной стенке крыс в динамике заживления после сквозного хирургического разреза.

Материалы и методы

Животные. В исследовании использованы 40 самок крыс Спрейг-Доули (возраст 14–16 недель, масса 220–280 граммов). При работе с животными соблюдали принципы гуманного обращения в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, и руководствовались ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с грызунами и кроликами», на проведение исследования получено разрешение биоэтической комиссии НИИ морфологии человека (протокол № 19 от 03.10.2017). Для точной идентификации фаз эстрального цикла [12] исследовали вагинальные мазки, окрашенные компонента-

ми набора «Диахим-Диф-Квик» («Абрис+», Россия). Уровень эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом [13] с помощью наборов реагентов «ИммуноФА-Эстрадиол» и «ИммуноФА-ПГ» («НВО Иммунотех», Россия).

Проведение операции. Выполняли сквозной разрез стенки правого рога матки в фазе эструса. Левый рог матки оставляли интактным для сравнительного контроля. Оперировали под общим наркозом, вводили анестетик золетил (Vibras, Франция) – 10 мг/кг и седативный препарат ксиланит («Нита-Фарм», Россия) – 0,1 мг/кг. Рассекали кожу и слои передней брюшной стенки длиной 20 мм по белой линии, выводили правый рог матки, наносили продольный сквозной разрез длиной 10 мм на антимезометриальной стороне, матку и брюшную стенку ушивали непрерывным обвивным швом нитью «Ультрасорб USP 6/0», кожу – П-образным узловым швом нитью «Моносорб USP 4/0». Шов обрабатывали 0,05% раствором хлоргексидина биглюконата («ЮжФарм», Россия) и спреем тетрацилин аэрозоль (IGS Aerosol GmbH, Германия).

Морфологическое исследование. Животных выводили из эксперимента передозировкой эфирного наркоза. Макроскопическое изучение и забор образцов тканей проводили ежедневно у пяти животных с 1-х по 7-е и на 15-е сутки. Визуально оценивали поврежденный и прилегающие участки оперированного рога и состояние неоперированного. Вырезали содержащий разрез маточный сегмент и с помощью линейки определяли долю длины разреза со стороны серозной оболочки, сросшуюся с жировой тканью. Степень сращения маточной стенки и жировой ткани брыжейки обозначали термином «прикрепление» и выражали в процентах. Термином «окутывание» обозначили степень покрытия жировой тканью участка поврежденного рога по всему периметру. Долю серозной поверхности поврежденного сегмента маточной трубки, покрытую жировой тканью, вычисляли после линейных измерений длины и диаметра покрытой и непокрытой жиром частей и выражали также в процентах. При полном окутывании жировой тканью брыжейки оперированного участка рога степень сращения и степень окутывания принимали за 100%. Для гистологического исследования образцы ткани фиксировали 10% забуференным формалином («БиоВитрум», Россия). После 48-часовой фиксации материал промывали, дегидратировали и заливали в парафин «Гистомикс экстра» («БиоВитрум», Россия). Срезы с парафиновых блоков толщиной 4 мкм получали на ротационном микротоме Sakura Accu-Cut SRM200 (Sakura, Япония), окрашивали гематоксилином и эозином («БиоВитрум», Россия), трихромным красителем по Пикро Маллори («БиоВитрум», Россия).

Иммуногистохимическое исследование. Адипоциты (FABP4⁺) выявляли кроличьими моноклональными антителами (мкАт) к FABP4 – транспортному белку липидов в адипоцитах (#ab219595, Abcam, Великобритания, рабочее разведение 1:100), макрофаги

(CD68⁺) – мышинными мкАт к CD68 (#ab31630, Abcam, Великобритания, рабочее разведение 1:100). Для проявления связавшихся первичных антител использовали набор реагентов Novolink™ Polymer Detection System (#RE7150, Leica, Великобритания). Срезы докрашивали гематоксилином Майера.

Микроскопию препаратов проводили с помощью системы Leica, состоящей из микроскопа Leica DM2500, видеокамеры Leica DFC290 и программного обеспечения для микроскопии Image Scope M (Leica, Германия). Исключали тангенциальные срезы. Морфометрический анализ выполняли на пяти поперечных срезах маточного сегмента, взятого от каждого животного в области повреждения, и в интактном роге. Общее количество скоплений FABP⁺ клеток подсчитывали по всему срезу при $\times 100$. Площадь каждого скопления определяли, выделяя область интереса в программе Image Scope M при $\times 200$. Количество клеток в скоплении считали при $\times 400$ во всех полях зрения. Количество CD68⁺ клеток подсчитывали при $\times 400$ в трех полях зрения в зонах интереса и выражали в единицах на 1000 мкм².

Статистический анализ. Обработку результатов выполняли в программе Statistica 12 (StatSoft). Результаты представляли в виде медианы с процентиллями 25% и 75% – Ме (Q1; Q3). Сравнение групп проводили с помощью U-критерия Манна–Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

На 1-е сутки после хирургической операции наблюдали явный сквозной дефект стенки матки (рис. 1 А3), место ушивания, прилегающие и отдаленные участки со стороны брюшной полости не содержали никаких дополнительных структур или сращений с другими тканями (рис. 1 А1–2). На 2-е сутки в отдельных участках раневого канала проявлялись признаки стягивания краев раны и частичное закрытие дефекта, а также фрагментарное прикрепление жировой ткани брыжейки к раневой поверхности (рис. 1 В1–3). Тем не менее плотность сращения тканей брыжейки с поврежденной стенкой матки была незначительной, и они легко отделялись при натяжении. На 3-и сутки у всех животных на внешней поверхности разреза обнаружили фиксацию жировой ткани, местами прикрывающей дефект (рис. 1 С1–2). Края раны были преимущественно сомкнуты (рис. 1 С3). На 4-е сутки наблюдали полное исчезновение раневого канала. Со стороны маточной полости зона повреждения была заполнена эндометрием с незначительным количеством прорастающих маточных желез (рис. 1 С3, D3), а со стороны брюшной полости выявили прикрепление жировой ткани брыжейки к месту бывшего разреза и ее разрастание вокруг внешней поверхности рога (рис. 1 D1–2). На 5-е сутки эндометрий с растущими маточными железами заполнил всю поврежденную зону, незначительно выступив за пределы периметрия, вплоть до сращения с жировой тканью брыжейки, покрывающей раневую

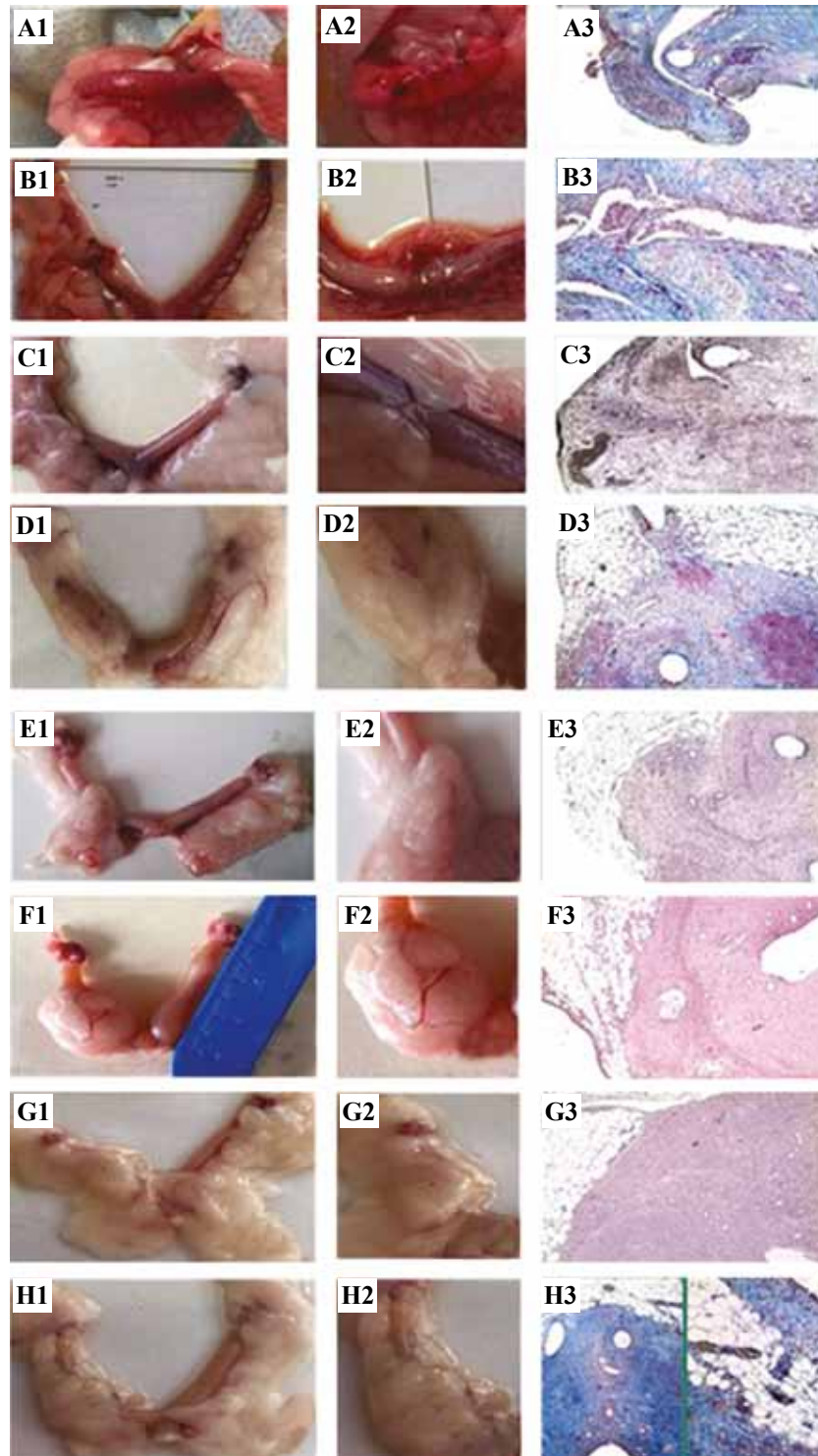


Рис. 1. Матка крысы после сквозного разреза стенки.

A – 1-е сутки после операции, B – 2-е сутки, C – 3-и сутки, D – 4-е сутки, E – 5-е сутки, F – 6-е сутки, G – 7-е сутки, H – 15-е сутки. A1–H1 – оперированный (правый) и неоперированный (левый) рога с мезометрием, A2–H2 – участок разреза стенки рога (правый), A3–H3 – зона заживления, $\times 50$, H3 – вставка $\times 100$; A3, B3, D3, H3 – окраска Пикро Маллори; C3, E3, F3, G3 – окраска гематоксилином и эозином

Fig. 1. The rat uterus after a full-thickness surgical incision of the uterine wall.

A – day 1 after the incision, B – day 2, C – day 3, D – day 4, E – day 5, F – day 6, G – day 7, H – day 15.

A1–H1 – damaged horn (right) and intact horn (left), A2–H2 – wounded uterine horn (right),

A3–H3 – sections of the healing zone, $\times 50$, H3 – insert $\times 100$; A3, B3, D3, H3 – stained by Picro Mallory; C3, E3, F3, G3 – H&E stain

область со стороны брюшной полости (рис. 1 ЕЗ). На 6–7-е сутки окутывание жировой тканью оперированного участка матки достигло в среднем 80% внешней поверхности (рис. 1 F–G). К 15-м суткам муфта из жировой ткани полностью или частично окутывала рог с оперированным участком (рис. 1 Н1–2), эндометрий заполнил область заживления до сращения с жировой тканью, причем участки жировой ткани проникали между слоями маточной стенки (рис. 1 Н3).

В таблице 1 представлены результаты оценки прикрепления жировой ткани к линии разреза и окутывания брыжейкой участка, содержащего повреждение. Установлено, что первые признаки прикрепления появлялись на 2-е сутки после операции, а неполное окутывание рога только на 3-и. К 4-м суткам ткань брыжейки покрывала разрез на протяжении всей его длины, а разрастающаяся с мезометриальной стороны жировая ткань окутывала до половины внешней стенки оперированного сегмента (рис. 1 D1–3). Полное сращение линии разреза с жировой тканью сохранялось вплоть до последнего дня наблюдений (15 суток). Окутывание оперированного сегмента ежедневно усиливалось и к 15-м суткам достигало 100%. На протяжении всего периода наблюдений интактный левый рог матки в процессах взаимодействия с жировой тканью брыжейки не участвовал, его маточная стенка подвергалась только физиологическим изменениям в соответствии с эстральным циклом (рис. 1).

Иммуногистохимический анализ распределения клеточных элементов жировой ткани в маточной стенке выявил отсутствие адипоцитов в интактном роге и изменение содержания FABP4⁺ клеток в процессе заживления оперированного рога (табл. 2). FABP4⁺ клетки располагались в поврежденной маточной стенке груп-

Таблица 1 | Table 1
Доля разреза с приросшей жировой тканью (прикрепление) и сегмента оперированного рога, окутанного жировой тканью (окутывание) | The percentage of the incision with the attached adipose tissue (attachment) and the operated horn segment, which was surrounded by adipose tissue (envelopment)

Сутки Day	Прикрепление Attachment (%), Me (Q1; Q3)	Окутывание Envelopment (%), Me (Q1; Q3)
1	–	–
2	40 (30; 50)	Незначительно / insignificantly
3	100 (80; 100)	30 (20; 30)
4	100 (100; 100)	50 (50; 60)
5	100 (100; 100)	70 (70; 80)
6	100 (100; 100)	90 (80; 100)
7	100 (100; 100)	90 (80; 100)
15	100 (100; 100)	100 (100; 100)

пами, формируя округлые гнездообразные скопления (рис. 2 A1, B1, C1, D1). Впервые скопления клеток данного фенотипа обнаружили на 3-и сутки заживления и только в зоне повреждения. На 4-е сутки FABP4⁺ клетки появились в отдаленных от повреждения участках периметрия, а на 5-е – также в зоне, прилегающей к шовному материалу (табл. 2). Динамика показателей площади гнезд зависела от локализации и продолжительности заживления. Изменение плотности клеток в скоплениях было незначительным и слабо отличалось в разных зонах (табл. 2). Позднее всего FABP4⁺ клетки

Таблица 2 | Table 2
Распределение клеток FABP4⁺ в маточной стенке оперированного рога | FABP4⁺ cells in the operated uterine wall

Сутки Day	Общее количество скоплений Total number of FABP4 ⁺ clusters, Me (Q1; Q3)	Площадь скоплений FABP4 ⁺ разной локализации, мкм ² Total area of FABP4 ⁺ clusters, μm ²			Количество FABP4 ⁺ клеток в скоплениях разной локализации в 1000 мкм ² The number of FABP4 ⁺ cells in the clusters per 1000 μm ²		
		зона повреждения the injury zone	зона шовного материала the zone near the suture fiber	отдаленный периметрий the distant uterine perimetrium	зона повреждения the injury zone	зона шовного материала the zone near the suture fiber	отдаленный периметрий the distant uterine perimetrium
1	–	–	–	–	–	–	–
2	–	–	–	–	–	–	–
3	0 (0; 1)	0 (0; 450)	–	–	0 (0; 8,3)	–	–
4	2 (2; 3)	4650 (3740; 5890)	–	3480 (3120; 4840)	6,1 (5,4; 6,4)	–	7,0 (6,7 ;8,0)
5	2 (2; 3)	2250 (1800; 3170)	1760 (0; 2200)	2870 (1460; 3420)	5,4 (4,4; 6,9)	4,5 (0; 6,8)	5,2 (4,4;5,3)
6	5 (4; 5)	4270 (3870; 4510)	1280 (0; 1920)	1740 (1200; 2700)	7,1 (6,9; 7,2)	5,2 (0; 5,8)	6,7 (6,3 ;7,6)
7	5 (5; 6)	3930 (3150; 4090)	2860 (1980; 4340)	3820 (3640; 4220)	6,4 (6,1; 7,9)	7,0 (6,7; 7,8)	6,0 (6,0 ;6,6)
15	3 (1; 4)	320 (0; 980)	–	1120 (720; 1370)	9,4 (0; 10,2)	–	7,3 (6,8 ;8,3)

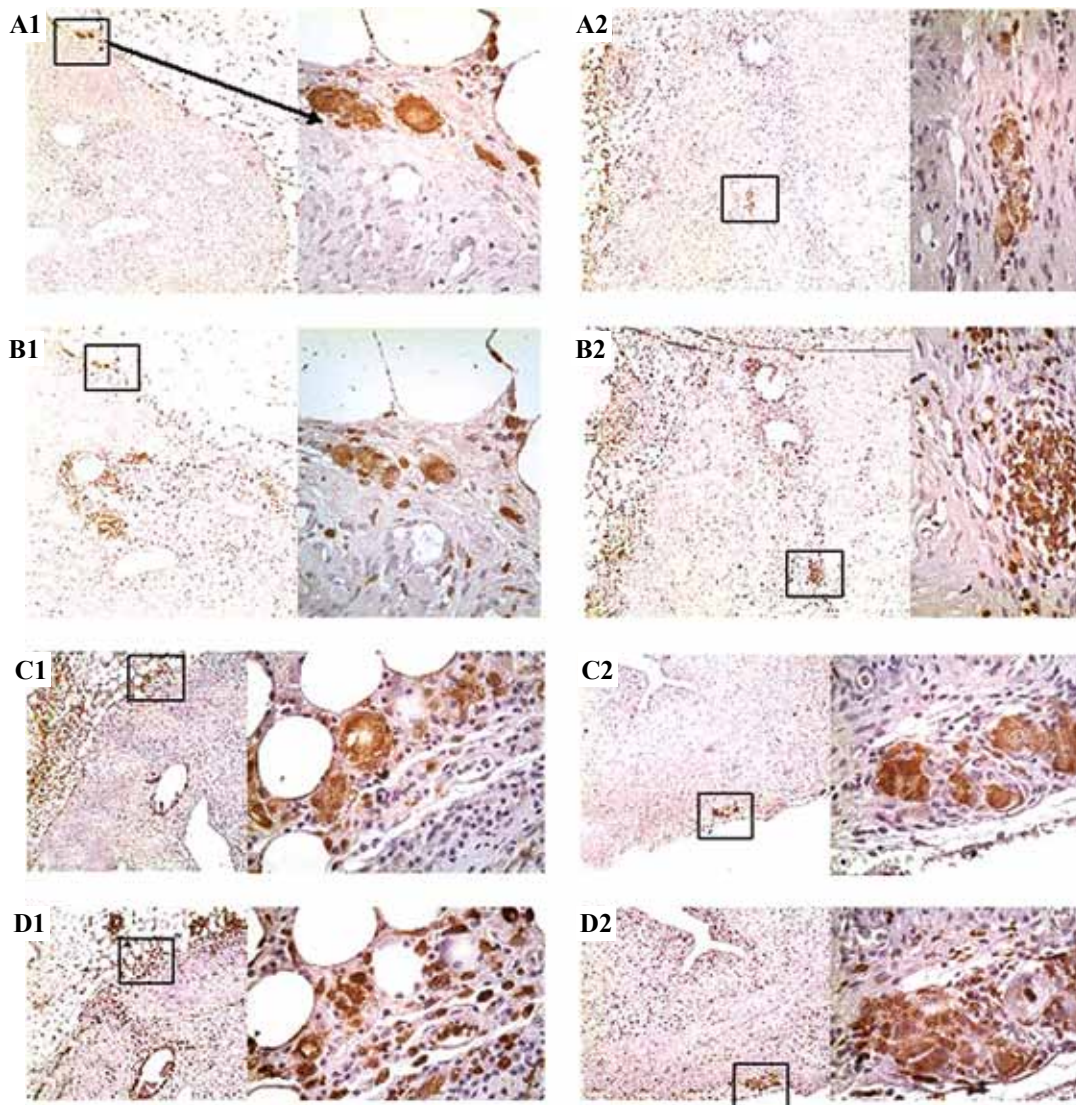


Рис. 2. Иммуногистохимическое исследование оперированного рога матки крысы.

A–B – 5-е сутки после операции, C–D – 15-е сутки. A1–D1 – FABP4⁺, A2–D2 – CD68⁺, ×50, вставки ×200

Fig. 2. Immunohistochemical assay of the damaged uterine horn.

A–B – day 5 after the incision, C–D – day 15. A1–D1 – FABP4⁺, A2–D2 – CD68⁺, ×50, inserts ×200

появлялись в зоне, прилегающей к шовному материалу, достигая максимума к 7-м суткам, а на 15-е они там уже не обнаруживались. В зоне повреждения и в отдаленном периметрии эти клетки выявлялись в наибольшем количестве на 4-е сутки, к 15-м их численность значительно сокращалась, причем в месте заживления в отдельных случаях FABP4⁺ клетки не обнаруживались. В периметрии гнезда присутствовали во всех наблюдениях, но их общая площадь сократилась в 3–5 раз. В разных зонах за весь период наблюдения плотность клеток в скоплениях отличалась незначительно.

Отмечено, что локализация FABP4⁺ клеток всегда совпадала с частичной локализацией макрофагов CD68⁺, но не наоборот. Кроме того, выявлен приток клеток фенотипа CD68⁺ в область, прилегающую к шовному материалу (рис. 2 A2, B2, C2). При этом ИГХ исследовании показало, что количество CD68⁺ клеток в зонах

интереса значительно меньше, чем клеток FABP4⁺, исключение составила лишь зона вблизи шовного материала (табл. 3). На 5-е сутки вблизи шовного материала CD68⁺ клеток было значительно больше, чем FABP4⁺ ($p < 0,05$), а с 6-х по 7-е сутки отличия были незначительные. На 15-е сутки плотность CD68⁺ клеток в данной локализации не отличалась от показателя 6-х суток, а FABP4⁺ клетки отсутствовали. В зоне заживления, как и вблизи шовного материала, макрофаги появлялись на 3-и сутки, что совпадало с началом закрытия раневого канала. Количество CD68⁺ клеток в месте заживления значимо отличалось от их содержания в эндометрии вне зоны повреждения ($p < 0,05$) в период с 3-х по 7-е сутки. На 15-е сутки отличия были незначительные. Достоверных отличий в количестве CD68⁺ в зонах скопления FABP⁺ и в отдаленном эндометрии на протяжении всего периода наблюдений не отмечено ($p > 0,05$).

Распределение CD68⁺ клеток в маточной стенке после повреждения |
CD68⁺ cells in the uterine wall after injury

Сутки Day	Количество CD68 ⁺ клеток в 1000 мкм ² CD68 ⁺ cells per 1000 μm ² , Me (Q1; Q3)			
	зона повреждения the injury zone	зона шовного материала the zone near the suture fiber	зона скопления FABP ⁺ the FABP ⁺ cluster	эндометрий вне зоны повреждения endometrium outside the zone of damage
3	0,9 (0,9; 1,0)	0,2 (0,0; 0,2)	–	1,4 (1,4; 1,8)
4	3,2 (3,1; 3,3)	2,2 (2,2; 2,3)	2,6 (2,5; 2,7)	1,5 (1,5; 1,5)
5	2,9 (2,6; 3,1)	8,2 (6,8; 8,3)	1,2 (1,2; 1,7)	1,2 (1,2; 1,2)
6	2,3 (2,3; 2,4)	4,7 (4,6; 4,8)	1,1 (0,6; 1,1)	2,0 (1,9; 2,0)
7	2,9 (2,4; 2,9)	4,9 (4,8; 5,0)	1,4 (0,8; 1,5)	1,7 (1,3; 1,7)
15	1,2 (1,1; 1,3)	4,6 (3,8; 4,9)	0,9 (0,8; 1,2)	1,0 (1,0; 1,1)

Обсуждение

В процессе заживления хирургического сквозного разреза маточной стенки крыс обнаружено прикрепление мезометрия к раневой поверхности, которое впервые отмечено на 2-е сутки в отдельных случаях, в местах частичного стягивания раны. На 4-е сутки во всех наблюдениях место разреза по всей длине срасталось с жировой тканью брыжейки. Затем жировая ткань продолжала распространяться по серозной оболочке вокруг рога матки. К 15-м суткам сегмент рога с поврежденным участком был окутан жировой тканью со всех сторон, как муфтой, с проникновением участков жира между слоями маточной стенки. Объем жировой муфты отличался от случая к случаю, что было обусловлено, видимо, индивидуальными особенностями животных. Сведения о роли жировой ткани в заживлении маточной стенки в научной литературе отсутствуют, при этом в единичных работах на грызунах авторы указывают на сращение тканей брыжейки с поврежденным участком маточной стенки в первые дни после операции, но не дают никаких комментариев по данному поводу [14, 15]. В исследовании К. Schlenger et al. показали, что прикрепление мезометриального жира к ране начиналось через сутки после гистеротомии, а уже к 14-му дню жировой слой отсутствовал над поврежденной зоной в большинстве образцов [15]. Тем не менее в нашем исследовании через сутки поврежденный участок был совершенно свободным от каких-либо спаек. Первые признаки прикрепления ткани брыжейки мы обнаружили лишь на 2-е сутки, и далее жировая масса вокруг рога только нарастала вплоть до окончания периода наблюдений (рис. 1). Возможно, различия в проведении операции и индивидуальные особенности животных оказали влияние на временные показатели прикрепления жировой ткани к ране. Так, С.С. Buhimschi et al. отмечали межлинейные различия в регенеративной способности маточной стенки после гистеротомии у мышей [14]. Наши наблюдения согласуются с данными других исследователей [15] в том, что в первые дни жировая ткань брыжейки прикрепляется к серозной оболочке поврежденной маточной стенки и распространяется далее по неповрежденной

поверхности, окутывая, в большей или меньшей степени, сегмент рога с повреждением со всех сторон в виде муфты. Таким образом, на самом раннем этапе заживления раневое пространство отделяется от брюшной полости тканевыми элементами еще до полного сращения краев.

Основным объектом исследования в данной работе служили клетки адипоцитарного происхождения с фенотипом FABP⁺ (синонимы: ALBP, aP2) – белком, связывающим жирные кислоты и участвующим в их внутриклеточной транспортировке [16]. Данный белок обнаружен также в макрофагах/пенистых клетках [17], поэтому перед нами стояла задача выяснить, могут ли выявляемые нами FABP⁺ клетки являться макрофагами. В результате сравнения на серийных срезах плотности клеток FABP⁺ и CD68⁺ в местах скопления нами показано значительное превышение показателей для FABP⁺, что указывает на присутствие именно адипоцитарных клеточных элементов в исследованных локализациях. Интересно, что после заполнения раневого пространства к 15-м суткам FABP⁺ клетки исчезали в околословном пространстве во всех наблюдениях и в зоне заживления в части наблюдений, однако их скопления продолжали обнаруживаться в отдаленных участках периметрии в местах прикрепления жировой ткани к брюшной поверхности рога.

В настоящей работе мы не акцентируем внимание на нейтрофилах – основных компонентах воспалительной фазы заживления, но следует отметить, что в зоне вблизи шовного материала их присутствие значительно снижалось на 3-и сутки, когда там начинали выявляться макрофаги. По данным литературы, пиковое значение содержания нейтрофилов в каждой ране также отмечается на 2-е сутки [18]. Количество макрофагов, мигрировавших в раневую зону кожи, тоже увеличивается на 2-е сутки и остается стабильным до 5-х суток, а затем начинает постепенно снижаться до фонового уровня к 14-м суткам [19]. Нами установлено, что к 5-м суткам в зоне заживления маточной стенки FABP⁺ клетки появляются только при отсутствии инфильтрации нейтрофилами. В участках около шовного материала с продолжающейся инфильтрацией нейтрофилами в отдельных

случаях FABP4⁺ клетки не обнаруживались. В левом неповрежденном роге FABP4⁺ клетки отсутствовали.

Маточная стенка – достаточно лабильная структура, отвечающая на действие половых гормонов в эстральном цикле изменением своих морфометрических показателей [20–22]. В зависимости от фазы эстрального цикла изменяется распределение макрофагов в маточной стенке [23, 24]. Продолжительность эстрального цикла крыс – всего 4–5 суток [13], поэтому при исследовании роли макрофагов в заживлении маточной стенки важно учитывать влияние гормонального фона на изменение их показателей. В качестве показателя, относящегося к физиологическим изменениям в эстральном цикле, мы определяли содержание макрофагов в участке эндометрия, отдаленном от зоны повреждения. К 15-м суткам достоверных различий в содержании CD68⁺ клеток в участке заживления и в отдаленных участках эндометрия не обнаружено, что свидетельствует о завершении активной роли макрофагов в процессе регенерации этой зоны и приближении ее к восстановлению физиологических функций. Подобные результаты получены при исследовании заживления ран кожи [19]. Изменения в количестве и фенотипе макрофагов могут определять состояние рубцовой ткани [25].

Заключение

В представленной работе охарактеризованы морфологические аспекты взаимодействия компонентов жировой ткани с поврежденной маточной стенкой в течение первых двух недель после сквозного хирургического разреза рога матки крысы. Показано, что клетки адипоцитарного происхождения принимают активное участие в процессе заживления сквозного повреждения маточной стенки крыс на самых ранних сроках. Жировая ткань брыжейки, прикрепляясь к раневому дефекту, создает изолирующую прослойку, отделяющую поврежденную зону от брюшной полости, и, возможно, является основным или дополнительным источником для поступления в область регенерации мезенхимальных стромальных стволовых клеток, обеспечивая успешное восстановление поврежденных тканей. Период наиболее активного взаимодействия жировой ткани с поврежденным рогом длится с 3-х по 15-е сутки и совпадает с активизацией макрофагов в зоне заживления. Тем не менее в зонах активной воспалительной реакции, инфильтрованных полиморфноядерными клетками, адипоциты отсутствуют. Для более детальной характеристики роли жировой ткани как возможного источника факторов, стимулирующих регенеративные процессы поврежденной маточной стенки, необходимы дальнейшие исследования.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Н.Б. Тихонова, А.П. Милованов. Сбор и обработка материала – В.В. Алексанкина, Н.Б. Тихонова, Т.В. Фокина, А.П. Алексанкин. Написание текста – Н.Б. Тихонова. Редактирование – А.П. Милованов, М.Н. Болтовская.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – N.B. Tikhonova, A.P. Milovanov. Collected the data and performed the analysis – V.V. Aleksankina, N.B. Tikhonova, T.V. Fokina, A.P. Alexankin. Wrote the paper – N.B. Tikhonova. Edited the manuscript – A.P. Milovanov, M.N. Boltovskaya.

Литература/References

1. Zhang Z, Shao M, Hepler C, Zi Z, Zhao S, An YA et al. Dermal adipose tissue has high plasticity and undergoes reversible de-differentiation in mice. *J Clin Invest*. 2019;129(12):5327–42. DOI: 10.1172/JCI1130239.
2. Zhou BO, Yu H, Yue R, Zhao Z, Rios JJ, Naveiras O et al. Bone marrow adipocytes promote the regeneration of stem cells and hematopoiesis by secreting SCF. *Nat Cell Biol*. 2017;19(8):891–903. DOI: 10.1038/ncb3570.
3. Wang QA, Song A, Chen W, Schwalie PC, Zhang F, Vishvanath L et al. Reversible de-differentiation of mature white adipocytes into preadipocyte-like precursors during lactation. *Cell Metab*. 2018;28(2):282–288.e3. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.05.022.
4. Zhang LJ, Guerrero-Juarez CF, Hata T, Bapat SP, Ramos R, Plikus MV et al. Innate immunity. Dermal adipocytes protect against invasive *Staphylococcus aureus* skin infection. *Science*. 2015;347(6217):67–71. DOI: 10.1126/science.1260972.
5. Frühbeck G, Méndez-Giménez L, Fernández-Formoso JA, Fernández S, Rodríguez A. Regulation of adipocyte lipolysis. *Nutr Res Rev*. 2014;27(1):63–93. DOI: 10.1017/S095442241400002X.
6. Tynan GA, Hearnden CH, Oleszycka E, Lyons CL, Coutts G, O'Connell J et al. Endogenous oils derived from human adipocytes are potent adjuvants that promote IL-1 α -dependent inflammation. *Diabetes*. 2014;63(6):2037–50. DOI: 10.2337/db13-1476.
7. Nelson AM, Loy DE, Lawson JA, Katseff AS, Fitzgerald GA, Garza LA. Prostaglandin D2 inhibits wound-induced hair follicle neogenesis through the receptor, Gpr44. *J Invest Dermatol*. 2013;133(4):881–9. DOI: 10.1038/jid.2012.398.
8. Shook BA, Wasko RR, Mano O, Rutenberg-Schoenberg M, Rudolph MC, Zirak B et al. Dermal adipocyte lipolysis and myofibroblast conversion are required for efficient skin repair. *Cell Stem Cell*. 2020;26(6):880–895.e6. DOI: 10.1016/j.stem.2020.03.013.
9. Shao X, Ai G, Wang L, Qin J, Li Y, Jiang H et al. Adipose-derived stem cells transplantation improves endometrial injury repair. *Zygote*. 2019;27(6):367–74. DOI: 10.1017/S096719941900042X.
10. Yotsumoto F, Iwaguro H, Harada Y, Sobajima S, Suwabe T, Miyamoto S. Adipose tissue-derived regenerative cells improve implantation of fertilized eggs in thin endometrium. *Regen Med*. 2020;15(7):1891–904. DOI: 10.2217/rme-2020-0037.
11. Sun H, Lu J, Li B, Chen S, Xiao X, Wang J et al. Partial regeneration of uterine horns in rats through adipose-derived stem cell sheets. *Biol Reprod*. 2018;99(5):1057–69. DOI: 10.1093/biolre/iy121.
12. Paccola CC, Resende CG, Stumpp T, Miraglia SM, Cipriano I. The rat estrous cycle revisited: A quantitative and qualitative analysis. *Anim Reprod*. 2013; 10(4):677–83.
13. Andersson H, Rehm S, Stanislaus D, Wood CE. Scientific and regulatory policy committee (SRPC) paper: Assessment of cir-

- culating hormones in nonclinical toxicity studies III. female reproductive hormones. *Toxicol Pathol.* 2013;41(6):921–34. DOI: 10.1177/0192623312466959.
14. *Buhimschi CS, Zhao G, Sora N, Madri JA, Buhimschi IA.* Myometrial wound healing post-Cesarean delivery in the MRL/MpJ mouse model of uterine scarring. *Am J Pathol.* 2010;177(1):197–207. DOI: 10.2353/ajpath.2010.091209.
 15. *Schlenger K, Höckel M, Schwab R, Frischmann-Berger R, Vaupel P.* How to improve the uterotomy healing. I. Effects of fibrin and tumor necrosis factor-alpha in the rat uterotomy model. *J Surg Res.* 1994;56(3):235–41. DOI: 10.1006/jsr.1994.1037.
 16. *Matarese V, Bernlohr DA.* Purification of murine adipocyte lipid-binding protein. Characterization as a fatty acid- and retinoic acid-binding protein. *J Biol Chem.* 1988;263(28):14544–51. PMID: 2844775.
 17. *Fu Y, Luo N, Lopes-Virella MF, Garvey WT.* The adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene facilitates foam cell formation in human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis.* 2002;165(2):259–69. DOI: 10.1016/s0021-9150(02)00305-2.
 18. *Kim MH, Liu W, Borjesson DL, Curry FR, Miller LS, Cheung AL et al.* Dynamics of neutrophil infiltration during cutaneous wound healing and infection using fluorescence imaging. *J Invest Dermatol.* 2008;128(7):1812–20. DOI: 10.1038/sj.jid.5701223.
 19. *Mahdavian Delavary B, van der Veer WM, van Egmond M, Niessen FB, Beelen RH.* Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology.* 2011;216(7):753–62. DOI: 10.1016/j.imbio.2011.01.001.
 20. *Westwood FR.* The female rat reproductive cycle: A practical histological guide to staging. *Toxicol Pathol.* 2008;36(3):375–84. DOI: 10.1177/0192623308315665.
 21. *Williams T, Rogers AW.* Morphometric studies of the response of the luminal epithelium in the rat uterus to exogenous hormones. *J Anat.* 1980;130(Pt 4):867–81. PMID: 7429973.
 22. *Grunert G, Neumann G, Porcia M, Tchernitchin AN.* The estrogenic responses to clomiphene in the different cell types of the rat uterus: Morphometrical evaluation. *Biol Reprod.* 1987;37(3):527–38. DOI: 10.1095/biolreprod37.3.527.
 23. *Wood GA, Fata JE, Watson KL, Khokha R.* Circulating hormones and estrous stage predict cellular and stromal remodeling in murine uterus. *Reproduction.* 2007;133(5):1035–44. DOI:10.1530/REP-06-030.
 24. *Kaushic C, Frauendorf E, Rossoll RM, Richardson JM, Wira CR.* Influence of the estrous cycle on the presence and distribution of immune cells in the rat reproductive tract. *Am J Reprod Immunol.* 1998;39(3):209–16. DOI: 10.1111/j.1600-0897.1998.tb00355.x.
 25. *Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ.* Macrophage phenotypes regulate scar formation and chronic wound healing. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):1545. PMID: 28714933.

Информация об авторах

Наталья Борисовна Тихонова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Андрей Петрович Милованов – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Валентина Викторовна Алексанкина – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Татьяна Васильевна Фокина – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Марина Николаевна Болтовская – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патологии репродукции НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Андрей Павлович Алексанкин – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Author information

Natalya B. Tikhonova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.
<https://orcid.org/0000-0001-5437-6933>

Andrey P. Milovanov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.
<https://orcid.org/0000-0001-8804-0258>

Valentina V. Aleksankina – Cand. Sci. (Biol.), Junior Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.
<https://orcid.org/0000-0001-9944-0230>

Tatyana V. Fokina – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.
<https://orcid.org/0000-0002-2467-7660>

Marina N. Boltovskaya – Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Pathology of Reproduction, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.
<https://orcid.org/0000-0002-9751-2066>

Andrey P. Aleksankin – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.
<https://orcid.org/0000-0001-6686-0896>