

Эффективность стимуляции репаративных процессов плазмой, обогащенной тромбоцитами при эндопротезировании брюшной стенки

© Б.С. СУКОВАТЫХ, М.А. ЗАТОЛОКИНА, Т.В. МУТОВА, Н.М. ВАЛУЙСКАЯ, В.А. ЖУКОВСКИЙ

Курский государственный медицинский университет, ул. К.Маркса, д. 3, Курск, 305041, Российская Федерация

Актуальность. Количество рецидивов вентральных грыж после эндопротезирования брюшной стенки легкими эндопротезами составляет 8-10%.

Цель исследования. Изучить морфологические изменения соединительной ткани, окружающей легкий полипропиленовый эндопротез, на ранних сроках имплантации при использовании обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

Материалы и методы. Проведен анализ результатов экспериментального исследования течения раневого процесса в тканях брюшной стенки при имплантации легкого полипропиленового протеза на 50 кроликах породы Шиншилла, разделенных на 2 группы по 25 особей в каждой. В первой группе животным проводилась только надапонеуротическая имплантация протеза, а во второй группе после имплантации протеза двукратно вводили аутоплазму, обогащенную тромбоцитами во время операции и на третьи сутки послеоперационного периода из расчета 0,5 мл плазмы на 1 см² эндопротеза. Животных выводили из опыта на 3-и, 7-е, 10-е, 14-е и 21-е сутки. Производили морфометрическое и гистологическое изучение реактивных изменений ткани, окружающей имплантированный эндопротез.

Результаты и их обсуждение. У животных второй группы воспалительная реакция на имплантацию протеза была ниже на 3-и сутки в 1,3 раза, на 7-е сутки в 1,2 раза, а на 10-е сутки в 1,1 раза, чем в первой группе. Фибробластическая реакция наоборот после введения аутоплазмы увеличивалась на 3-и сутки в 1,2 раза, на 7-е сутки в 1,14 раза, на 14-е сутки в 1,18 раза. Толщина соединительнотканной капсулы на 21-е сутки эксперимента во второй группе была в 1,57 раза больше, чем в первой группе. На этом сроке в первой группе незрелая соединительнотканная капсула представлена рыхлыми коллагеновыми волокнами и клетками фибробластического ряда без разделения на слои. Во второй группе плотный соединительнотканнный каркас образован зрелыми коллагеновыми волокнами, расположенными компактно и параллельно друг другу. Хорошо выражено послойное строение капсулы: внутренний слой состоит из клеток фибробластического ряда, а наружный из зрелых коллагеновых волокон.

Выводы. Применение плазмы, обогащенной тромбоцитами, для стимуляции репаративных процессов при имплантации легкого полипропиленового протеза в брюшную стенку патогенетически обосновано и эффективно.

Ключевые слова: брюшная стенка, легкий полипропиленовый протез, стимуляция репаративных процессов, плазма обогащенная тромбоцитами

The Effectiveness of the Reparative Processes Stimulation of the Platelet-rich Plasma in Case of the Abdominal Wall Endoprosthetics

© B.S. SUKOVATYKH, M.A. ZATOLOKINA, T.V. MUTOVA, N.M. VALUYSKAYA, V.A. ZHUKOVSKY

Kursk State Medical University, 3, Karl Marx Street, Kursk, 305041, Russian Federation

Relevance. The number of ventral hernias recurrence after abdominal wall endoprosthetics with the lightweight endoprosthesis is 8-10%.

The purpose of the research is to study the morphological changes of the connective tissue, surrounding a lightweight polypropylene endoprosthesis, at the early stages of implantation at the use of platelet-rich autoplasm.

Materials and methods. The results of experimental research of the course of wound process in the abdominal wall tissues during the implantation of the lightweight polypropylene prosthesis on 50 Chinchilla rabbits divided into 2 groups of 25 animal units each have been analyzed. Subaponeurotic implantation of the prosthesis was carried out in the first group of animals. In the second group, the platelet-rich autoplasm was twice introduced after the implantation of the prosthesis during surgery and on the third day of the postoperative period at the rate of 0,5 ml plasma per 1 cm² of the endoprosthesis. The animals were taken away from the experiment on the 3rd, 7th, 10th, 14th and 21st day. Morphometric and histological study of reactive changes of tissue surrounding the implanted endoprosthesis was carried out.

Results and its discussion. In the animals of the second group, the inflammatory response to prosthesis implantation was 1,3 times lower on the third day, 1,2 times lower on the 7th day, and 1,1 times lower on the 10th day, than in the first group. Fibroblastic response, on the contrary, has increased into 1,2 times on the third day, into 1,14 during the 7th day and into 1,18 during the 14th day after the introduction of autoplasm. The thickness of the connective tissue capsule in the second group was 1,57 times higher than in the first group on the 21st day of the experiment. At this time, in the first group, the immature connective tissue capsule has been represented by the loose collagen fibers and fibroblastic cells without separation into the layers. In the second group, a dense connective tissue frame has been formed by the mature collagen fibers arranged compactly and in parallel to each other. The layer-by-layer structure of the capsule is well expressed: the inner layer consists of the fibroblastic cells, and the outer layer consists of

the mature collagen fibers.

Conclusion. *The use of platelet-rich plasma to stimulate reparative processes in the implantation of the lightweight polypropylene prosthesis in the abdominal wall is pathogenetically justified and effective.*

Key words: *abdominal wall, light polypropylene prosthesis, stimulation of reparative processes, platelet-rich plasma*

В Российской герниологии за последние 20 лет произошли революционные изменения вследствие внедрения в технологию лечения вентральных грыж эндопротезирования брюшной стенки. Если при применении аутопластических методов закрытия дефектов брюшной стенки рецидив заболевания развивался у 20-30% больных, то после эндопротезирования стандартными полипропиленовыми сетками с диаметром нити 120 микрон слабых мест, количество рецидивов снизилось до 3-5% [1,2]. Однако, стандартные эндопротезы имеют большую материалоемкость. Поэтому после имплантации в брюшную стенку развивается гиперпластическая реакция соединительнотканых элементов капсулы, которая ограничивает подвижность брюшной стенки, вызывает развитие хронического болевого синдрома в области послеоперационного рубца, ощущения у больных инородного тела [3,4]. Снижение качества жизни пациентов привело к внедрению в клиническую практику легких, с диаметром нити 90 микрон, и суперлегких с диаметром нити 70 микрон, эндопротезов [5]. К сожалению, при применении легких материалов количество рецидивов вентральных грыж возросло до 8-10% вследствие их низкой прочности и гипопластической реакции соединительной ткани брюшной стенки в местах их имплантации [6,7]. Плохо сформированная соединительно-тканная капсула приводила к образованию складок и появлению рецидива заболевания по краю эндопротеза [8,9]. Для стимуляции замедленной регенерации тканей стали применяться аллогенные эмбриональные фибробласты. Установлено, что при их двукратном введении в операционную рану с имплантированным протезом, происходит ускорение купирования воспалительной реакции и быстрое завершение дифференцировки соединительной ткани [10]. К сожалению, данный метод не вошел в клиническую практику из-за необходимости специализированной лаборатории для изготовления аллогенных эмбриональных фибробластов и недостатка материалов для их производства. В последние годы с целью стимуляции репаративных процессов при аллогерниопластике стали применяться фармакологические лекарственные препараты: аскорбиновую кислоту, оротат калия и солкосерил [11,12,13]. Наибольшей эффективностью в стимуляции неоколлагеногенеза обладает солкосерил, оказывающий позитивное влияние на репаративные процессы путем улучшения транспорта кислорода и глюкозы клеткам, находящимся в состоянии гипоксии. Однако данные препараты не входят в стандарты лечения вентральных грыж и не оплачиваются фондами медицинского страхования, что создает определенные трудности для их применения в лечении больных. Кроме этого,

лекарственные препараты оказывали в большей степени позитивное системное воздействие и в меньшей степени на процессы регенерации в области аллогерниопластики.

Хорошо известно, что эффективным средством стимуляции репаративных процессов является введение в ткани аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами. Альфа-гранулы плазмы содержат факторы роста – естественные полипептиды, обладающие широким спектром биологического локального воздействия на основные звенья репаративного процесса: хемотаксис, клеточную пролиферацию, миграцию клеток, дифференцировку, реструктуризацию и ангиогенез [14]. Изучение влияния плазмы, обогащенной тромбоцитами на течение раневого процесса при имплантации синтетического протеза в брюшную стенку до настоящего времени не произведено.

Цель исследования - изучить морфологические изменения соединительной ткани, окружающей легкий полипропиленовый эндопротез, на ранних сроках имплантации, при использовании обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование проведено в центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. Эксперименты выполнены на 50 кроликах породы «Шиншилла», одного пола (самцы), массой 2500 г, в возрасте от 1 по 1,5 лет. Выбор кроликов в качестве экспериментальных животных был обусловлен возможностью экстраполяции данных о реактивных изменениях тканей, окружающих эндопротез в условиях использования плазмы, обогащенной тромбоцитами, на ткани человека.

Животных отбирали в эксперимент без внешних признаков заболевания после двухнедельного карантина в условиях вивария Курского государственного медицинского университета.

Все манипуляции с лабораторными животными осуществляли в соответствии с принципами биоэтики, правилами лабораторной практики (GLP) и соответствовали международным рекомендациям (этическому кодексу) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985 г.), с соблюдением принципов, изложенных в законе «О защите животных от жестокого обращения» гл. V, ст. 104679 – ГД от 01.12.1999 г., и согласно приказу Минздрава России от 19.06.2003г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Таблица 1/ Table 1

Результаты морфометрического исследования клеточного состава и клеточного индекса на разных сроках эксперимента (M±m) / Results of morphometric study of the cellular composition and cell index at the different periods of the experiment (M±m)

Показатели / Indexes	Серия эксперимента / Stage of the experiment	Сроки имплантации / Period of implantation				
		3 сут / The 3 rd day, n=10	7 сут / The 7 th day, n=10	10 сут / The 10 th day, n=10	14 сут / The 14 th day, n=10	21 сут / The 21 st day n=10
Нейтрофилы / Neutrophils	1-я контрольная / The first, control	15,8±0,25	11,6±0,19	5,2±0,15	2,9±0,09	4,6±0,25
	2-я опытная / The second, experimental	12,6±0,17	9,6±0,32	4,9±0,14	5,5±0,16	4,6±0,25
Лимфоциты / Lymphocytes	1-я контрольная / The first, control	17,2±0,41	12,2±0,24	7,2±0,15	2,9±0,27	5,1±0,26
	2-я опытная / The second, experimental	14,4±0,16	12,1±0,30	5,7±0,23	9,8±0,24	5,1±0,26
Плазмоциты / Plasmacytes	1-я контрольная / The first, control	9,2±0,19	8,9±0,30	6,1±0,26	7,7±0,25	9,0±0,52
	2-я опытная / The second, experimental	7,1±0,15	3,7±0,18	7,8±0,35	10,5±0,30	4,2±0,26
Макрофаги / Macrophages	1-я контрольная / The first, control	20,0±0,42	20,3±0,46	20,4±0,32	15,4±0,18	21,0±0,37
	2-я опытная / The second, experimental	21,4±0,27	22,4±0,40	19,9±0,21	13,1±0,14	22,1±0,40
Тучные клетки / Mastocytes	1-я контрольная / The first, control	19,6±0,11	12,2±0,22	15,3±0,27	14,3±0,25	9,9±0,396
	2-я опытная / The second, experimental	12,6±0,17	10,5±0,19	13,4±0,21	14,8±0,15	10,1±0,19
Фибробласты / Fibroblasts	1-я контрольная / The first, control	11,5±0,18	18,7±0,25	23,4±0,31	24,5±0,31	20,6±0,13
	2-я опытная / The second, experimental	13,8±0,22	21,4±0,23	24,4±0,29	28,9±0,45	21,7±0,30
Фibroциты / Fibrocytes	1-я контрольная / The first, control	6,7±0,13	16,1±0,39	22,4±0,37	27,3±0,25	29,8±0,13
	2-я опытная / The second, experimental	8,1±0,21	20,3±0,32	23,9±0,30	26,7±0,39	32,2±0,29
Клеточный индекс / Cell index	1-я контрольная / The first, control	0,6±0,02	1,2±0,11	1,9±0,12	2,1±0,11	2,5±0,09
	2-я опытная / The second, experimental	0,9±0,01	1,8±0,1	2,1±0,11	2,7±0,14	3,2±0,12

Материалом для исследования был выбран легкий полипропиленовый сетчатый эндопротез с диаметром нити 90 микрон.

Экспериментальные животные были разделены на две группы по 25 животных в каждой. Животным 1-й группы надрезом имплантировали

легкий эндопротез без введения в рану обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, во 2-й группе имплантировали аналогичный протез с введением в рану обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

Все эксперименты были выполнены с соблюдением правил асептики и антисептики. Животным в

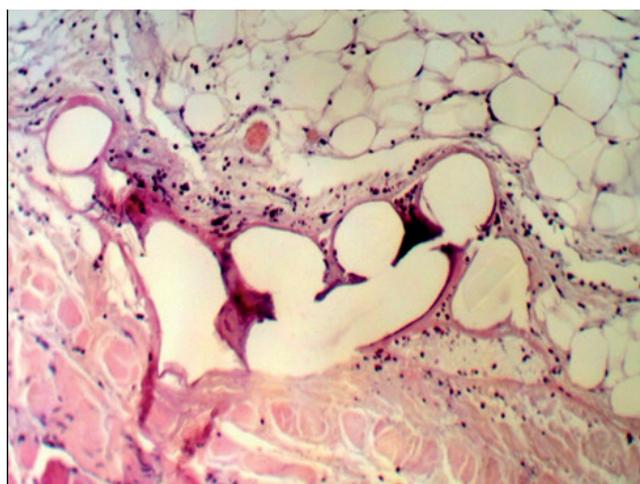
Результаты морфометрического исследования толщины капсулы эндопротеза (мкм) ($M \pm m$) /
 The results of morphometric study of the endoprosthesis capsule thickness (mcm) ($M \pm m$)

Срок наблюдения / Period of observation	n	Контрольная серия / The test series	n	Опытная серия / The experimental series	p
Толщина капсулы / The thickness of the capsule					
7 сутки / The 7 th day	5	8,19±0,15	5	9,62±0,35	≤0,05
10 сутки / The 10 th day	5	12,83±0,20	5	23,94±0,46	≤0,05
14 сутки / The 14 th day	5	33,99±0,61	5	32,57±0,52	≥0,05
21 сутки / The 21 st day	5	49,75±0,78	5	78,23±2,25	≤0,05

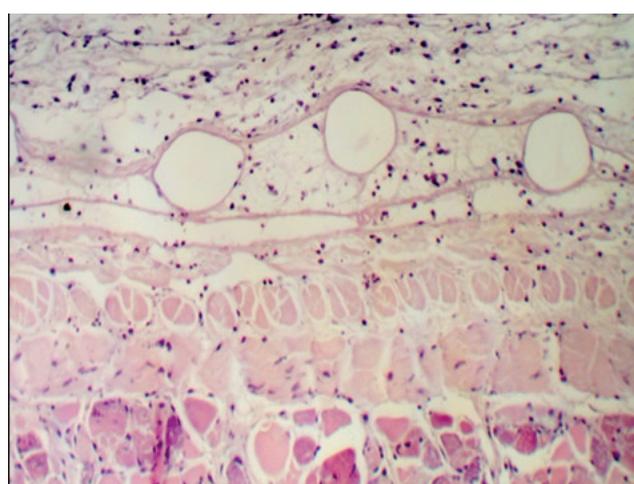
1 группе под общим наркозом (внутривенно вводили препарат «Золетил 50» в дозе 5 мг/кг массы) в асептических условиях выполняли срединный разрез кожи, подкожной клетчатки длиной 7 см по белой линии живота отступив от мечевидного отростка 1-2 см в направлении к лобковому симфизу. Тупым и острым путем освобождали апоневроз прямых мышц живота от подкожной жировой клетчатки на 2 см в каждую сторону от срединного разреза. На апоневроз укладывали сетчатый полипропиленовый эндопротез размерами 3 x 2 см. Фиксацию эндопротеза выполняли непрерывным швом полипропиленовой мононитью 3/0. Гемостаз проводили по ходу операции. После завершения оперативного вмешательства, отдельными узловыми швами ушивали подкожную жировую клетчатку и кожу. Рану не дренировали.

Животным во 2-й группе перед операцией готовили аутоплазму, обогащенную тромбоцитами, по следующей методике. После удаления шерсти и обработки 70% раствором этилового спирта, из вены уха кролика аспирировали в стерильную вакуумную пробирку с 3,8% цитратом натрия (1:9) 5 мл крови. Про-

изводили однократное центрифугирование при 1500 оборотах в минуту в течение 15 минут. Шприцем с длинной иглой производили забор осадка в объеме 2,5-х мл обогащенной тромбоцитами плазмы, с количеством тромбоцитов более 1 млн. в 1 мл. В нее добавляли 10% раствор хлорида кальция для активации тромбоцитов в объеме 0,1 мл. Аналогичным образом как у животных первой группы надапоневротически имплантировали легкий протез. После имплантации в ткани передней брюшной стенки вводили в области 4 углов и по центру под сетчатый эндопротез аутоплазму, обогащенную тромбоцитами, в объеме 0,5 мл плазмы на 1 см² сетчатого эндопротеза. Гемостаз проводили по ходу операции. По окончании оперативного вмешательства отдельными узловыми швами ушивали кожу и подкожную клетчатку. На 3 сутки после операции у кролика повторно выполняли забор крови из вены уха, по изложенной выше методике получали обогащенную тромбоцитами аутоплазму и повторно вводили ее в ткани передней брюшной стенки под имплантированный сетчатый эндопротез в области 4 углов и по центру, в объеме 0,5 мл плазмы на 1 см²



А/А



Б/В

Рис. 1. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 3 сутки эксперимента: А - легкий эндопротез - большое количество клеток воспалительного ряда окружают нити протеза; Б - легкий эндопротез с введением в рану обогащенной тромбоцитами аутоплазмы - воспалительная реакция менее выражена, начальные этапы образования перипротезной капсулы. Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. x 200. / Fig. 1. Pathomorphological changes in the tissues of the abdominal wall on the 3rd day of the experiment. A: the lightweight endoprosthesis - a large number of inflammatory cell is surrounded by the prosthesis strands. B: the lightweight implant with the introduction of platelet-rich autoplasm into the wound - the inflammatory reaction is less expressed, the initial stages of the periprosthetic capsule formation are observed. Painted with hematoxylin and eosin. 200 times magnified.

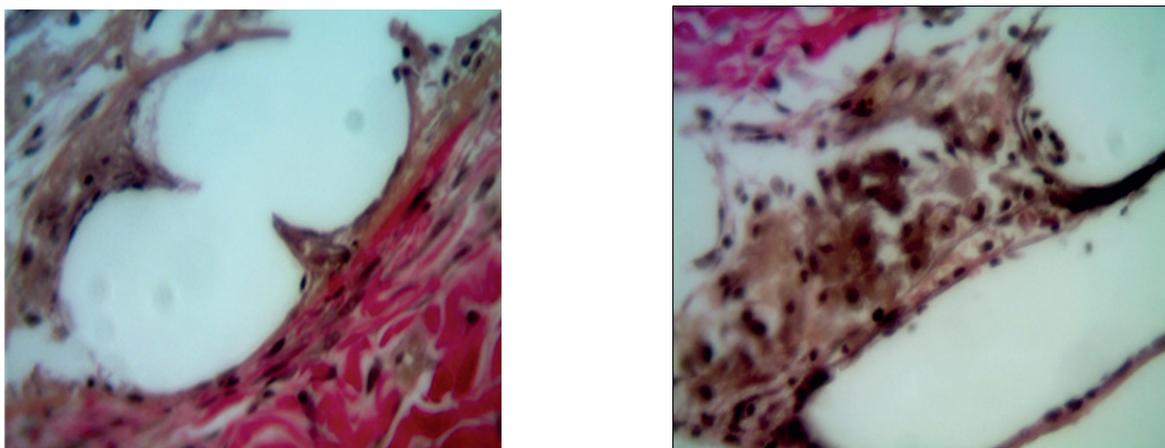


Рис. 2. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 7 сутки эксперимента: А - легкий эндопротез - вокруг нитей легкого эндопротеза тонкие, извилистые, переплетающиеся между собой молодые соединительнотканые волокна, образующие «кольцо»; Б - легкий эндопротез с введением в рану обогащенной тромбоцитами аутоплазмы - вокруг нитей эндопротеза более толстые, яркие оксифильные коллагеновые волокна. В непосредственной близости к нитям эндопротеза клеточный компонент преобладает над волокнистым, крупные гипертрофированные фибробласты расположены во внутреннем слое пока еще тонкой и недостаточно сформированной перипротезной капсуле. Окрашено по ван Гизон. Ув. x400. / Fig. 2. Pathomorphological changes in the tissues of the abdominal wall on the 7th day of the experiment: A: lightweight endoprosthesis. Around the threads of the lightweight endoprosthesis there are thin, winding, interwoven new connective tissue fibers, forming the ring. B: lightweight endoprosthesis with the introduction of platelet-rich autoplasm into the wound - around the threads of the endoprosthesis there are thicker, bright oxyphilic collagen fibers. In the close proximity to the threads of the endoprosthesis, the cellular component prevails over the fibrous one, large hypertrophied fibroblasts are located in the inner layer of the periprosthetic capsule, yet thin and insufficiently formed. Van Gieson's stain. 400 times magnified.

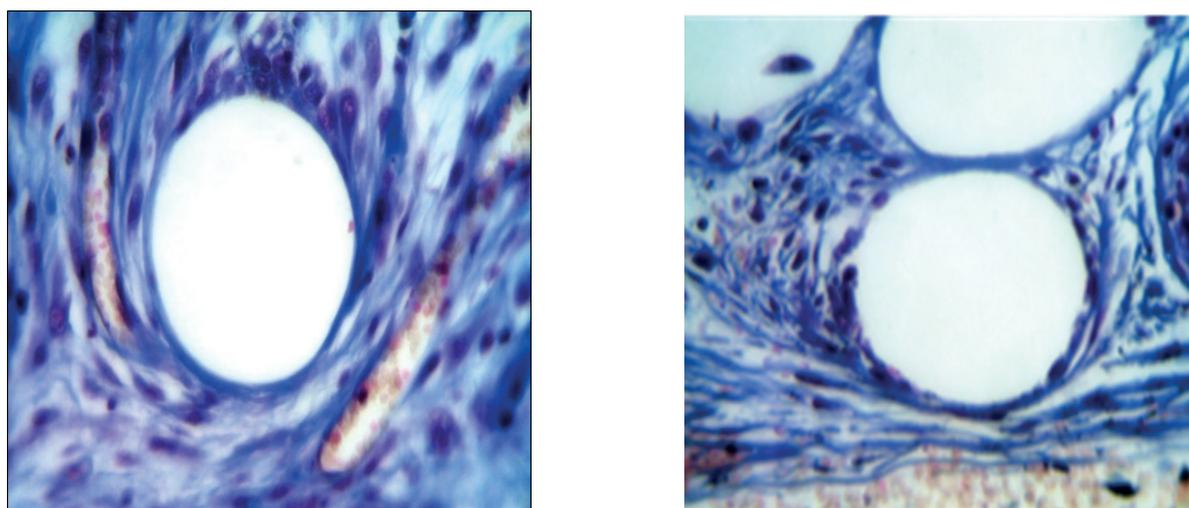


Рис. 3. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 10 сутки эксперимента: А - легкий эндопротез - вокруг нитей эндопротеза находятся крупные фибробласты, визуализируются лимфоциты, единичные плазмocyты, моноциты, фиброциты и макрофаги; Б - легкий эндопротез с введением в рану обогащенной тромбоцитами аутоплазмы - вокруг нитей эндопротеза формируется соединительнотканная капсула. Окрашено по Маллори. Ув. x400. / Fig. 3. Pathomorphological changes in the abdominal wall tissues on the 10th day of the experiment: A: lightweight endoprosthesis - around the threads of the endoprosthesis there are large fibroblasts, lymphocytes, single plasmocytes, monocytes, fibrocytes and macrophages are visualized. B: lightweight endoprosthesis with the introduction of platelet-rich autoplasm into the wound; connective tissue capsule is being formed around the threads of the endoprosthesis. Mallory stain. 400 times magnified.

сетчатого эндопротеза. Обогащенную тромбоцитами плазму вводили в места, где наиболее часто возникает разрыв и отторжение трансплантата. Повторное введение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы способствует быстрому протеканию стадии экссудации и наступлению стадии пролиферации раневого процесса, а так же дальнейшей стимуляции репаративных процессов [14].

На протяжении всего эксперимента проводили динамическое наблюдение за общим состоянием животных и заживлением послеоперационных ран. Из эксперимента животных выводили на 3, 7, 10, 14 и 21 сутки после операции, путем передозировки средств для наркоза.

После выведения животных из эксперимента в указанные сроки проводили забор материала для морфологических исследований.

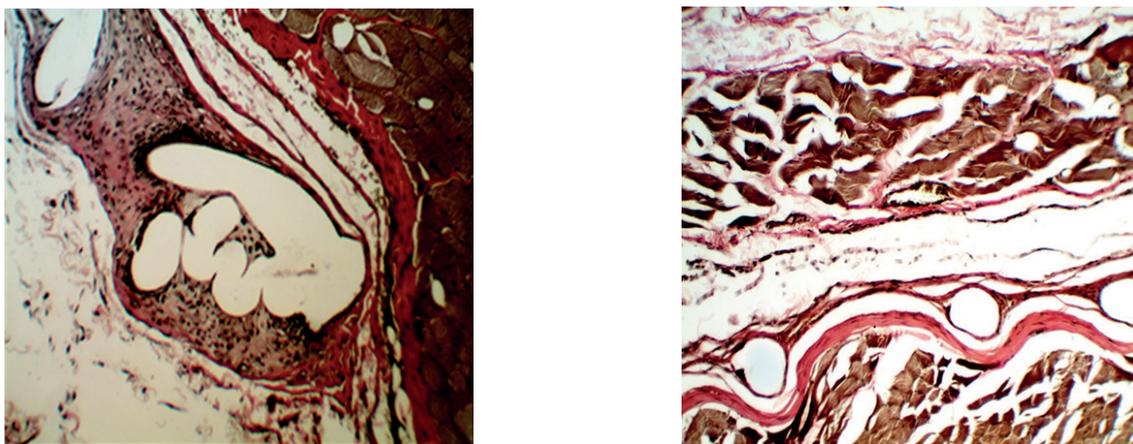


Рис. 4. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 14 сутки эксперимента: А - легкий эндопротез – перипротезная капсула неоднородная, наблюдается чередование клеточных и волокнистых слоев; Б - легкий эндопротез с введением в рану обогащенной тромбоцитами аутоплазмы – зрелая соединительнотканная перипротезная капсула, внутренний клеточный слой которой представлен клетками фибробластического ряда, а наружный – зрелыми коллагеновыми волокнами. Окрашено по ванн Гизон. Ув. x200. / Fig. 4. Pathomorphological changes in the abdominal wall tissues on the 14th day of the experiment. A: lightweight endoprosthesis - periprosthetic capsule is heterogeneous, there is an alternation of the cellular and fibrous layers. B: lightweight endoprosthesis with the introduction of thrombocyte-rich autoplasm into the wound; mature connective periprosthetic capsule the inner cell layer of which is represented by fibroblastic cells, and the outer one by the mature collagen fibers. Van Gieson's stain. 200 times magnified.

Для гистологического изучения реактивных изменений тканей, окружающих имплантированный эндопротез, иссекали единым блоком участок передней брюшной стенки кролика размерами 2x2 см, включая материал эндопротеза. Извлеченные фрагменты биологического материала растягивали на пластинах плотного картона для предупреждения их деформации во время фиксации, а затем полностью погружали в 10% раствор забуференного нейтрального формалина на 2 недели с обязательной заменой раствора на 2-е сутки фиксации. После фиксации, из взятого блока иссекали кусочки размерами 1 x 1 см, включающие материал эндопротеза и заливали в парафин по стандартной методике. Далее изготавливали гистологические срезы толщиной 5-7 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином (с целью обзорного изучения), по Маллори и по методу ван Гизона (для изучения реактивных изменений окружающей соединительной ткани).

Микроскопирование и микрофотосъемку осуществляли с помощью оптической системы, состоящей из светового микроскопа Leica CME, цифровой окуляр-камеры DCM - 510 на увеличениях x40, x100, x200 и x400 крат с документированием снимков в программе FUTURE WINJOE, входящей в комплект поставки окуляр - камеры.

На микрофотографиях выполняли оценку площади воспалительно-клеточного инфильтрата вокруг нитей эндопротезов, строение соединительнотканной капсулы, наличие и выраженность ее слоев, степень зрелости коллагеновых волокон и их толщину.

Морфометрию осуществляли следующим образом: все полученные гистологические препараты были сфотографированы при увеличении x200 и x400.

При микроскопии на малом увеличении оценивали наличие и строение соединительнотканной

капсулы, выраженность ее слоев, степень взаимной интеграции волокон капсулы и окружающих соединительнотканых структур (апоневроз и фасции мышц передней брюшной стенки). При микроскопии на большом увеличении (x400), оценивали клеточный и волокнистый компонент, окружающий эндопротез соединительной ткани. По кариологическим признакам дифференцировали: фибробласты и фиброциты, макрофаги, плазматические клетки, лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы и тучные клетки. Процентное соотношение указанных представителей клеточной популяции рассчитывали после подсчета 100 клеток в нескольких непересекающихся полях зрения.

Для объективизации формирования заключения о морфологических изменениях вокруг нитей протеза мы использовали метод подсчета клеточного индекса (КИ) по следующей формуле:

Клетки резиденты

КИ = $\frac{\text{Клетки резиденты}}{\text{Клетки нерезиденты}}$

Клетки резиденты – общее количество макрофагов, фибробластов и фиброцитов. Клетки нерезиденты – общее количество гранулоцитов (все три вида), моноцитов, лимфоцитов, тучных клеток и плазмоцитов, рекрутированных в очаг воспаления. При значении клеточного индекса <1 делали вывод о преобладании воспалительных изменений, характерных для I фазы течения раневого процесса, при значении >1 делали вывод о преобладании репаративных тенденций, характерных для II фазы.

Статистика

Выбор методов статистического анализа проводили в соответствии с ГОСТ Р 50779.11-2000 (ИСО 3534-2-93). Полученные цифровые данные обрабатывали статистически с целью изучения статистической

значимости расхождений средних величин в сравниваемых группах. После определения типа распределения данных был выбран метод оценки достоверности отличий по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни. Учитывая низкую чувствительность непараметрических методик к типу распределения, а также допустимый для экспериментальных медико-биологических исследований уровень $p \leq 0,05$, для подтверждения статистической гипотезы был выбран именно такой уровень значимости. Все вычисления выполнялись с помощью аналитического пакета приложения Excel Office 2010, лицензией на право использования которой обладает ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России.

Результаты и их обсуждение

Результаты морфометрического исследования клеточного состава окружающих эндопротез тканей и клеточного индекса на разных сроках эксперимента представлены в таблице 1.

У животных второй группы после введения аутоплазмы воспалительная реакция по динамике нейтрофилов на имплантированный протез была на 3-и сутки эксперимента ниже в 1,3, на 7-е в 1,2, на 10-е в 1,1 раза, чем у животных в первой группе. На последующих сутках она была слабо выражена в обеих группах. Фибробластическая реакция наоборот после введения аутоплазмы увеличивалась на 3-и сутки в 1,2, на 7-е сутки в 1,14, на 14-е сутки в 1,18 раза. В обеих группах на протяжении всего эксперимента динамика макрофагов была одинакова. Статистически достоверные отличия были выявлены на 14 сутки эксперимента между клетками макрофагального ряда, так в контрольной группе количество макрофагов снизилось в 1,3 раза, а в опытной – в 1,6 раза по сравнению с 3 сутками.

Рассматривая изменения клеточного индекса, как изменение клеточного состава окружающих эндопротез нитей, в обеих группах отмечали его увеличение. Уже к 7 суткам значение клеточного индекса превышало 1, что свидетельствовало о преобладании репаративных процессов, характерных для II фазы раневого процесса. В процессе эксперимента показатель продолжал увеличиваться в контрольной в 4,04 раза и в опытной в 3,4 раза. Однако достоверных отличий в контрольной и опытной группах не выявлено. Клеточный индекс во второй группе был выше, чем в первой на 3-и и 7-е сутки в 1,5 раза, а на 14-е и 21-е сутки в 1,3 раза.

При морфометрическом исследовании с 7 по 21 сутки определяли толщину капсулы вокруг нитей эндопротеза в микрометрах (мкм). На 3-и сутки эксперимента элементы капсулы не определялись в обеих группах. Результаты морфометрического исследования толщины капсулы эндопротеза представлены в таблице 2.

С 7 по 21 сутки как в контрольной, так и в опытной группах отмечали увеличение толщины соединительнотканых капсул в 6,1 и 8,1 раза соответственно. Толщина капсулы после введения аутоплазмы на 7-е сутки была статистически достоверно больше в 1,7, на 10-е в 1,87 и на 21-е сутки в 1,57 раза, чем у животных первой группы.

Микроскопическое изучение гистологических срезов участка передней брюшной стенки с имплантированным легким эндопротезом на 3 сутки у животных в первой группе показало, что в непосредственной близости к нитям эндопротеза клеточный компонент преобладал над волокнистым. В поле зрения визуализировалось большое количество нейтро-

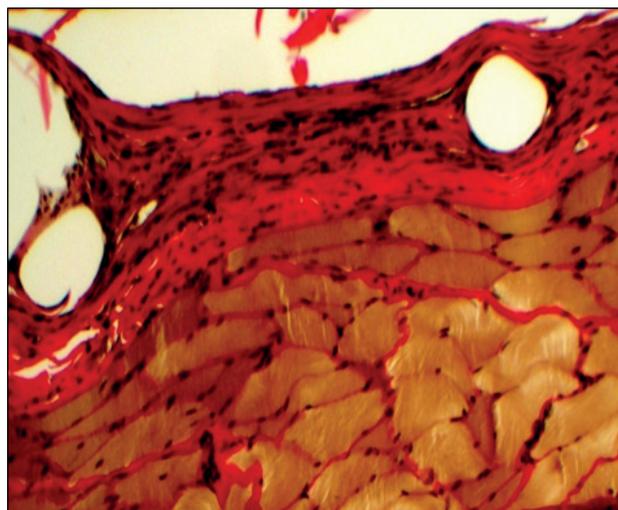
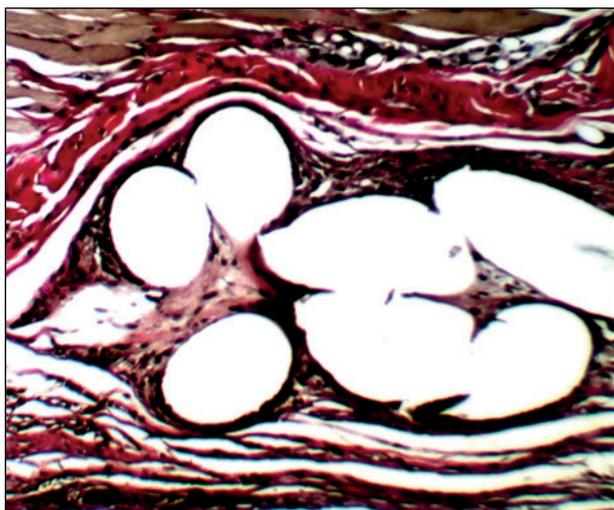


Рис. 5. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 21 сутки эксперимента: А - легкий эндопротез - незрелая соединительнотканная перипротезная капсула, Б - легкий эндопротез с введением в рану обогащенной тромбоцитами аутоплазмы - толстая, зрелая перипротезная капсула, образованная коллагеновыми волокнами, расположенными плотно и компактно. Окрашено по ванн Гизон. Ув. x200. / Fig. 5. Pathomorphological changes in the abdominal wall tissues on the 21st day of the experiment. A: lightweight endoprosthesis - the immature connective tissue periprosthetic capsule. B: lightweight endoprosthesis with the introduction of platelet-rich autoplasm into the wound - the thick and mature periprosthetic capsule, formed by collagen fibers, tightly and compactly located. Van Gieson's stain. 200 times magnified.

филов, лимфоцитов и тучных клеток, находящихся в стадии дегрануляции. Клетки фибробластического ряда, моноциты, макрофаги и плазмоциты были единичные. С наружной и внутренней поверхностей эндопротеза происходила сборка коллагеновых фибрилл в коллагеновые волокна. Коллагеновые фибриллы хорошо определялись в межклеточном матриксе, куда они попадали после отщепления концевых молекул от молекулы тропоколлагена. С наружной поверхности эндопротеза начинался процесс упорядочивания тонких новообразованных коллагеновых волокон несколько раньше, чем с внутренней. Однако вести речь о соединительнотканной перипротезной капсуле пока еще не представлялось возможным (рис. 1А). Во 2-й опытной группе в условиях применения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, с наружной и внутренней стороны эндопротеза наблюдался процесс упорядочивания и структуризации волокон соединительной ткани по контуру нитей эндопротеза, т.е. начинались этапы образования перипротезной капсулы. Однако, новообразованные волокна были незрелые, тонкие, расположены рыхло (рис. 1Б).

На 7 сутки эксперимента у животных первой группы плотность клеточных элементов на стандартной площади среза была низкая. В поле зрения преобладали фибробласты и лимфоциты. Между нитями эндопротеза зрелых коллагеновых волокон нет. Визуализировались очень тонкие соединительнотканнные волокна (рис. 2А). У животных второй группы наблюдалось дальнейшее построение соединительнотканного каркаса вокруг нитей эндопротеза. Тонкие соединительнотканнные волокна располагались более упорядоченно и плотно, в сравнении с предыдущим сроком эксперимента. Зрелой, полноценной перипротезной капсулы нет. При этом, преимущественно с наружной стороны эндопротеза определялись более толстые, ярко оксифильные (при окраске по ванн Гизон) коллагеновые волокна. Визуализировались большое количество новообразованных кровеносных сосудов, обеспечивающих хорошую васкуляризацию зоны контакта тканей живого организма с инородным веществом, что так же способствовало более быстрому приживлению импланта (рис. 2Б).

На 10-е сутки эксперимента у животных первой группы процесс приживления импланта протекал не достаточно активно. Непосредственно вокруг нитей эндопротеза выявлены расположенные в несколько рядов крупные гипертрофированные фибробласты со светлой цитоплазмой и темными гиперхромными ядрами. В поле зрения определялись лимфоциты, единичные плазмоциты и моноциты, фиброциты и в большом количестве макрофаги. При окраске по Маллори ядра клеток более яркие и более интенсивно окрашенные, что свидетельствует об активных синтетических процессах в клетке. Вокруг пучков нитей легкого эндопротеза новообразованная капсула недостаточно зрелая. Отсутствует выраженная послойность в ее

строении (рис. 3А). В условиях введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, вокруг нитей эндопротеза формировалась соединительнотканная капсула с подразделением на слои. Во внутреннем клеточном слое перипротезной капсулы встречались преимущественно только клетки фибробластического ряда, а в наружном – незрелые коллагеновые волокна. Вокруг нитей эндопротеза плотность клеток более высокая, чем без использования плазмы (рис. 3Б).

На 14 сутки у животных первой группы начинала формироваться тонкая соединительнотканная капсула, образованная незрелыми соединительнотканнными волокнами. Капсула неоднородная, наблюдается чередование клеточных и волокнистых слоев, что в свою очередь свидетельствует о меньшей плотности и прочности капсулы. В поле зрения определялось очень много фибробластов, встречались лимфоциты, единичные нейтрофилы и плазмоциты. Рядом с новообразованными кровеносными сосудами, расположенными вокруг нитей и между ними, локализовались достаточно крупные тучные клетки, находящиеся в стадии дегрануляции (рис. 4А). У животных второй группы на этом сроке происходило образование не только зрелой и достаточно мощной соединительнотканной перипротезной капсулы, но и появление качественных отличий в ее строении. Внутренний клеточный слой представлен клетками фибробластического ряда, единичными лимфоцитами, плазмоцитами и макрофагами. Наружный, волокнистый слой образован зрелыми (при окраске по ванн Гизон - ярко оксифильные) коллагеновыми волокнами, расположенными плотно, компактно и параллельно друг другу в одном направлении (рис. 4Б).

На 21-е сутки у животных первой группы продолжалось формирование незрелой соединительнотканной перипротезной капсулы. Слои капсулы плохо дифференцируются. В наружном слое определялись упорядоченно расположенные рыхлые недостаточно зрелые коллагеновые волокна. Внутренний слой содержал преимущественно клетки фибробластического ряда, лимфоциты, единичные плазмоциты и макрофаги. Клеточный слой широкий, плотность клеток в нем высокая (рис. 5А). У животных второй группы на этом сроке происходило дальнейшее преобразование перипротезной капсулы. Плотный соединительнотканнный каркас образован зрелыми коллагеновыми волокнами, расположенными компактно и параллельно друг к другу. Хорошо выражено послойное строение соединительнотканной капсулы. Во внутреннем слое визуализировались клетки фибробластического ряда, в наружном – волокнисто-зрелые коллагеновые волокна, окрашивающиеся в ярко оксифильный цвет при окраске по ванн Гизон (рис. 5Б).

Разработанная технология стимуляции репаративных процессов плазмой, обогащенной тромбоцитами, при эндопротезировании брюшной стенки обладает рядом преимуществ. Первым преимуществом является оптимизация репаративных процессов в зоне

имплантации протеза. Проведенные ранее исследования показали, что зрелая соединительнотканная капсула вокруг легкого материала образуется не ранее чем через 4 недели от момента имплантации [15]. Введение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, позволяет быстро в течение 2-х недель сформировать прочную соединительнотканную капсулу вокруг легкого импланта. Следовательно, процессы вживления легкого материала в ткани реципиента ускоряются в 2 раза. Второе преимущество – безопасность манипуляции для реципиентов, так как используются аутологические клетки крови, не вызывающие побочных эффектов при их введении. Третье преимущество – низкая себестоимость процедуры. Затраты на получение аутоплазмы минимальны и не повышают стоимость лечения пациента с вентральными грыжами. Четвертое преимущество – простота технологии миниинвазивного лечения, которая доступна для выполнения как в любом хирургическом стационаре, так и в амбулаторных условиях.

Список литературы

1. Тимербулатов М.В., Тимербулатов Ш.В., Гатауллина Э.З., Валитова Э.Р. Послеоперационные вентральные грыжи: современное состояние проблемы. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2013;8:5:101-107
2. Klinge U, Klosterhalfen B. Modified classification of surgical meshes for hernia repair based on the analyses of 1,000 explanted meshes. *Hernia*. 2012;16:3:251-258
3. Ануров М.В., Титкова С.М., Эттингер А.П. Сравнение результатов пластики грыжевого дефекта стандартными и легкими сетчатыми эндопротезами с одинаковым трикотажным переплетением. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2010;150:10:433-439
4. Bringman S, Wollert S, Österberg J, Smedberg S, Granlund H, Heikkinen TJ. Three year results of a randomized clinical trial of lightweight or standard polypropylene mesh in Lichtenstein repair of primary inguinal hernia. *British journal of surgery*. 2006; 93 :9: 1056-1059.
5. Шестаков А.Л., Инаков А.Г., Цховребов А.Т. Оценка эффективности герниопластики у больных с грыжами передней брюшной стенки с помощью опросника SF-36. *Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2017; 3: 50-53.
6. Егиев В.Н., Чижев Д.В. Первые результаты клинического применения «усиленных» полипропиленовых сеток при лечении грыж брюшной стенки. *Московский хирургический журнал*. 2013;3:39-41.
7. Zuvela M, Galun D, Djuric-Stefanovic A, Palibrk I, Petrovic M, Milicevic M. Central rupture and bulging of low-weight polypropylene mesh following recurrent incisional sublay hernioplasty. *Hernia*. 2014; 18:1: 135-140.
8. Шестаков А.Л., Федоров Д.Н., Иванчик И.Я., Боева И.А., Битаров Т.Т. Сравнительная оценка стандартных композитных, композитных и «облегченных» синтетических протезов, применяемых для герниопластики (экспериментальная работа). *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2017; 2: 81-87.
9. Petro CC, Nahabet EH, Criss CN, Orenstein SB, Von Recum HA, Novitsky YW. Central failures of lightweight monofilament polyester mesh causing hernia recurrence: a cautionary note. *Hernia*. 2015;19:1:155-159
10. Иванов И.С., Лазаренко В.А., Иванов С.В., Горяинова Г.Н., Иванов А.В. Влияние экзогенных эмбриональных фибробластов на соотношение коллагена I и III типов в тканях парапротезной капсулы мышей. *Цитология*. 2012;54: 10:783-789.
11. Лазаренко В.А., Иванов С.В., Иванов И.С., Цуканов А.В., Голиков А.В., Иванова И.А., Тарабрин Д.В., Гуфаров Г.И. Влияние аскорбиновой кислоты на течение раневого процесса при имплантации материалов «Эсфил», «Прогрип» в эксперименте. *Курский научно-медицинский вестник «Человек и его здоровье»*. 2015;4:93-96.
12. Иванов С.В., Лазаренко В.А., Иванов И.С., Розберг И.П., Цуканов А.В., Попова Л.П., Тарабрин Д.В., Обьедков Е.Г. Влияние оротака калия на неоколлагенез при имплантации полипропиленового эндопротеза и эндопротеза из полипропилена с молочной кислотой в эксперименте. *Хирургия*. 2017;3:50-54.

Заключение

Введение плазмы, обогащенной тромбоцитами, для стимуляции репаративных процессов при имплантации легких синтетических материалов в брюшную стенку патогенетически обосновано и эффективно.

Дополнительная информация

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований Курского государственного медицинского университета. Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей изделий медицинского назначения авторы не получали.

Одобрение комитета по этике

Положительное заключение на экспериментальные исследования Регионального Этического Комитета Курского государственного медицинского университета получено 05.11.2013 года, протокол №2-2013.

References

1. Timerbulatov MV, Timerbulatov ShV, Gataullina EZ, Valitova ER Postoperative ventral hernias: the current state of the problem. *Medicinskij vestnik Bashkortostana*. 2013; 8:5: 101-107 (in Russ.)
2. Klinge U, Klosterhalfen B Modified classification of surgical meshes for hernia repair based on the analyses of 1,000 explanted meshes. *Hernia*. 2012; 16:3: 251-258.
3. Anurov MV, Titkova SM, Ettinger AP Comparison of the results of hernia defect plasty with the standard and lightweight mesh endoprostheses with the same knitted weave. *Byulleten' ehkspierimental'noj biologii i mediciny*. 2010; 150:10:433-439 (in Russ.)
4. Bringman S, Wollert S, Österberg J, Smedberg S, Granlund H, Heikkinen TJ Three-year results of a randomized clinical trial of lightweight or standard polypropylene mesh in Lichtenstein repair of primary inguinal hernia. *British journal of surgery*. 2006; 93: 9: 1056-1059.
5. Shestakov AL, Inakov AG, Tsovrebov AT Evaluation of the effectiveness of hernioplasty in patients with hernias of the anterior abdominal wall by means of SF-36 questionnaire. *Vestnik nacional'nogo mediko-hirurgicheskogo centra im. N.I. Pirogova*. 2017; 3: 50-53 (in Russ.)
6. Egiyev VN, Chizhov DV The first results of the clinical application of the enhanced polypropylene mesh in the treatment of abdominal wall hernias. *Moskovskij hirurgicheskij zhurnal*. 2013;3: 39-41 (in Russ.)
7. Zuvela M, Galun D, Djuric-Stefanovic A, Palibrk I, Petrovic M, Milicevic M Central rupture and bulging of low-weight polypropylene mesh following recurrent incisional sublay hernioplasty. *Hernia*. 2014; 18:1:135-140.
8. Shestakov AL, Fyodorov DN, Inanchik IYa, Boyeva IA, Bitarov TT Comparative evaluation of the standard composite, composite and lightweight synthetic prostheses used for hernioplasty (experimental work). *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*. 2017; 2:81-87. (in Russ.)
9. Petro CC, Nahabet EH, Criss CN, Orenstein SB, Von Recum HA, Novitsky YW. Central failures of lightweight monofilament polyester mesh causing hernia recurrence: a cautionary note. *Hernia*. 2015; 19:1:155-159.
10. Ivanov IS, Lazarenko VA, Ivanov SV, Goryainova GN, Ivanov AV Effect of exogenous embryonic fibroblasts on collagen type I and III ratio in the tissues of paraprosthesis capsule in mice. *Citologiya*. 2012; 54:10: 783-789 (in Russ.)
11. Lazarenko VA, Ivanov SV, Ivanov IS, Tsukanov AV, Golikov AV, Ivanova IA, Tarabrin DV, Gufarov GI The effect of ascorbic acid on the course of the wound process in the implantation of Progrid materials in the experiment. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*. 2015; 4: 93-96 (in Russ.)
12. Ivanov SV, Lazarenko VA, Ivanov IS, Rozberg IP, Tsukanov AV, Popova LP, Tarabrin DV, Obyedkov EG. Influence of potassium orotate on neocollagenesis during implantation of polypropylene endoprosthesis and endoprosthesis made of polypropylene with lactic acid in the experiment. *Hirurgiya*. 2017; 3: 50-54. (in Russ.)
13. Lazarenko VA, Ivanov SV, Ivanov IS, Parfyonov IP, Goryainova GN, Pashina IG, Tsukanov AV, Ivanova IA, Obyedkov IG Morphological changes at the sight of implantation of Parietene and Progrid

13. Лазаренко В.А., Иванов С.В., Иванов И.С., Парфенов И.П., Горяинова Г.Н., Пашина И.Г., Цуканов А.В., Иванова И.А., Обьедков И.Г. Морфологические изменения в области имплантации эндопротеза «Parietene» и «Progrip» в зависимости от использования препарата «Солкосерил». *Курский научно-медицинский вестник «Человек и его здоровье»*. 2016; 4: 70-76.
14. Ачкасов Е.Е., Безуглов Э.Н., Ульянов А.А., Куршев В.В., Репетюк А.Д., Егорова О.Н. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в клинической практике. *Биомедицина*. 2013;4:46-59.
15. Егиев В.Н., Чижов Д.В., Филаткина Н.В. Взаимодействие полипропиленовых эндопротезов с тканями передней брюшной стенки. *Герниология*. 2005;2:41-49.

- endoprosthesis depending on the usage of Solkoseril. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*. 2016; 4: 70-76 (in Russ.)
14. Achkasov EE, Bezuglov EN, Ulyanov AA, Kurshev VV, Repetyuk AD, Yegorova ON The application of platelet-rich autoplasm in clinical practice. *Biomedicina*. 2013; 4: 46-59 (in Russ.)
15. Egiev VN, Chizhov DV, Filatkina NV Interaction of polypropylene endoprotheses with the tissues of the anterior abdominal wall. *Gerniologiya*. 2005; 2: 41-49. (in Russ.)

Информация об авторах

1. Суковатых Борис Семенович - д.м.н., проф. зав. кафедрой общей хирургии Курского государственного медицинского университета, e-mail: SukovatykhBS@kursksmu.net
2. Затолокина Мария Алексеевна – д.м.н., проф., доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии Курского государственного медицинского университета, e-mail: ZatokinaMA@kursksmu.net
3. Мутова Тамара Викторовна – ассистент кафедры общей хирургии Курского государственного медицинского университета, e-mail: MutovaTV@kursksmu.net
4. Валуйская Нелли Михайловна – к.м.н., ассистент кафедры общей хирургии Курского государственного медицинского университета, e-mail: ValuiskayaNM@kursksmu.net
5. Жуковский Валерий Анатольевич – д.т.н., профессор кафедры наноструктурных, волокнистых и композиционных материалов им. А.И. Меоса, научный руководитель лаборатории полимерных материалов Санкт-Петербургского государственного университета промышленных технологий и дизайна, e-mail: rdd.lintex@gmail.com

Information about the Authors

1. Boris Semenovich Sukovatykh – M.D., head of the Department of General Surgery, Kursk State Medical University, e-mail: SukovatykhBS@kursksmu.net
2. Maria Alexeevna Zatokina – M.D., Associate Professor of the Department of Histology, Embryology and Cytology, Kursk State Medical University, e-mail: ZatokinaMA@kursksmu.net
3. Tamara Viktorovna Mutova – assistant of the Department of General Surgery, Kursk State Medical University, e-mail: MutovaTV@kursksmu.net
4. Nelly Mikhailovna Valuyskaya – Ph.D., assistant of the Department of General Surgery, Kursk State Medical University, e-mail: ValuiskayaNM@kursksmu.net
5. Valeriy Anatolievich Zhukovsky – Doctor of Technical Sciences, Professor of the Department of nanostructured, fibrous and composite materials named after A.I. Meos, scientific supervisor of the laboratory of polymeric materials, St. Petersburg State University of industrial technologies and design, e-mail: rdd.lintex@gmail.com

Цитировать:

Суковатых Б.С., Затолокина М.А., Мутова Т.В., Валуйская Н.М., Жуковский В.А. Эффективность стимуляции репаративных процессов плазмой, обогащенной тромбоцитами при эндопротезировании брюшной стенки. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии* 2018; 11: 4: 275-284. DOI: 10.18499/2070-478X-2018-11-4-275-284.

To cite this article:

Sukovatykh B.S., Zatokina M.A., Mutova T.V., Valuyskaya N.M., Zhukovsky V.A. The Effectiveness of the Reparative Processes Stimulation of the Platelet-rich Plasma in Case of the Abdominal Wall Endoprosthesis. *Journal of experimental and clinical surgery* 2018; 11: 4: 275-284. DOI: 10.18499/2070-478X-2018-11-4-275-284.