

© Четверіков С.Г., Михайлов О.С., Сажієнко В.В.

УДК: 617-089.843-02:617-089.843-085.382-092.9

Четверіков С.Г., Михайлов О.С., Сажієнко В.В.

Одеський національний медичний університет, Центр реконструктивної і відновної медицини (Університетська клініка) (вул. Тіниста, 8, м. Одеса, Україна, 65009)

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАСТОСУВАННЯ ДВОКОМПОНЕНТНИХ КОМПОЗИТНИХ АЛОТРАНСПЛАНТАТІВ ОКРЕМО ТА В КОМПЛЕКСІ ЗІ ЗБАГАЧЕНОЮ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМОЮ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. При використанні композитних сітчастих імплантатів не рідко спостерігаються ранні та пізні післяопераційні ускладнення, узв'язку з неспецифічною реакцією "на стороннє тіло" в зоні імплантації. Нами проведений експеримент на 36 статевозрілих самцях лінії Вістар. В основі покладено вивчення морфологічних змін оточуючих біологічних тканин композитний сітчастий імплантат з великими порами "Ultrapro", а також його поєднання з збагаченим тромбоцитами фібрином і жировим трансплантатом. Дослідження показало, що при використанні конструкції - сітчастий імплантат, збагачена тромбоцитами фібрин, жирової трансплантат, ініціюються процеси утворення і організації сполучної тканини, неоангіогенеза. За рахунок локального підвищення концентрації високоактивних біологічних субстанцій і регенеративних цитокінів у поєднанні з жировим трансплантатом маючи у своєму складі мультипотентні стовбурові клітини, підвищується проліферативна активність всіх клітинних елементів оточуючих сітчастих імплантат, що веде до його оптимальної інтеграції в навколишні тканини.

Ключові слова: збагачений тромбоцитами фібрин, жирової трансплантат, цитокіни, мультипотентні стовбурові клітини, двокомпонентний композиційний сітчастий імплантат.

Вступ

Принципи та методи лікування вентральних гриж добре вивчені, але актуальність проблеми залишається гострою, що обумовлене поширеністю захворювання та частими незадовільними результатами лікування. Стандартом в лікуванні вентральних гриж є алопластика дефекту сітчастими трансплантатами. В той же час, більшість синтетичних матеріалів, що застосовуються для лікування гриж передньої черевної стінки, будучи стороннім тілом, викликають та підтримують запальну реакцію внаслідок недостатньої біологічної сумісності чи неадекватної структури. Неспецифічна запальна реакція "на стороннє тіло" в зоні імплантації, окрім негативної альтернуючої фази (що проявляється утворенням сіром та інфільтратів), складається з проліферативної фази, яка триває весь час знаходження трансплантату в тканинах та проявляється утворенням та постійним оновленням сполучної тканини [Четверіков, 2009] Для зниження післяопераційних ускладнень виходячи з патогенезу ускладнень (велика кількість аломатеріалу приводить до надлишкового фіброзу навколо протезу та втрати його біомеханічних властивостей розробили легкі сітки з великими порами. [Langer, 2005].

Для оптимізації репарації тканин у різних галузях медицини здобули розповсюдженості продукти на основі плазми збагаченої на тромбоцити (ЗТП) (англ. Platelet Rich Plasma), котрі мають 3 фактори росту (трансформуючий фактор росту $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), тромбоцитарний фактор росту АВ (PDGF-AB) та фактор росту ендотелія судів (VEGF), а також матричні білки (фібронектин, витронектин і тромбоспондин) [Dohan Ehrenfest, 2012]. Відбувається вивільнення в навколишні тканини регенеративних цитокінів. Також широке поширення отримало застосування жирової тканини, як дже-

рела мультипотентних стромальних стовбурових клітин, які володіють високим терапевтичним потенціалом. Ефект може надати позитивний вплив на інтеграцію синтетичних матеріалів в оточуючих біологічних тканинах [Запорожан, 2011]. Мета роботи - дати порівняльну характеристику та вивчити морфологічні зміни навколишніх біологічних тканин на композитний імплантат, а також зміни при одночасному його застосуванні зі збагаченим тромбоцитами фібрином та жировим трансплантатом.

Матеріали та методи

Експериментальне дослідження проводилось на 36 статевозрілих самцях щурів лінії Вістар, масою 160 - 180 г. Дослідження проводилось з дотриманням основних правил патофізіологічного експерименту, в умовах біологічної клініки ОНМедУ.

Методи вилучення: 1. отримання збагаченої тромбоцитами фібрину проходило за допомогою одержування крові з лівого шлуночка щурів, після чого з неї за допомогою системи для концентрації клітин SmartPReP 2 отримували плазму багату тромбоцитами (ПБоТ) і аутологічний тромбін; 2. жирова тканина вилучалася у здорових пацієнтів, за методикою Coleman, під час ліпосакції. Обробка жирової тканини проводилася за раніше описаною методикою [Сажієнко та ін., 2011].

ПБоТ, змішували в шприці з раніше обробленої жировою тканиною у співвідношенні 1:9. Шприц з отриманим раніше аутологічним тромбином і шприц, що містить ПБоТ, і жирову тканину з'єднували з V-подібним спейсером виробництва Harvest technologies Corp. (USA). Відповідно до завдань дослідження, щурам підшкірно в II різних сегмента спини імплантува-

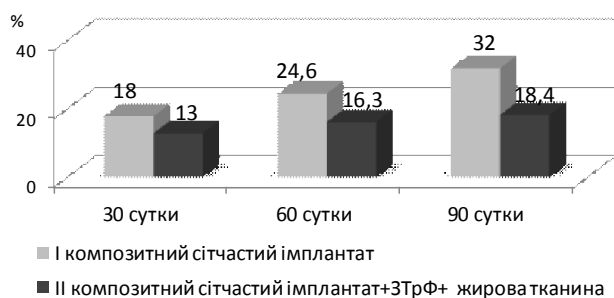


Рис. 1. Морфометричний аналіз утворення сполучної тканини (площа фіброзу, %).

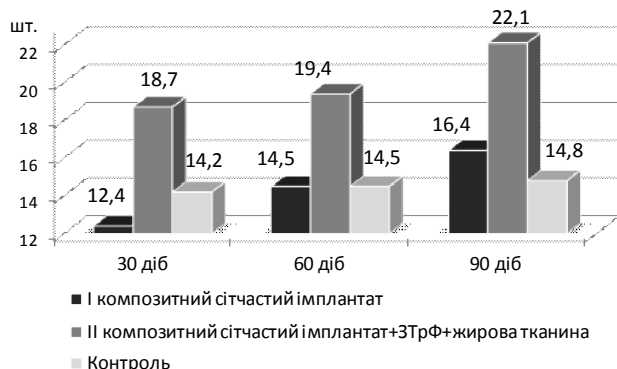


Рис. 2. Морфометричний аналіз інтенсивності локального неоангіогенезу. Середня кількість судин мікроциркуляторного русла навколо трансплантату в полі діаметром 1 мм.

ли: фрагмент композитного синтетичного імплантату 10x10 мм (I сегмент), фрагмент імплантату 10x10 мм укладений в оболонку, що містить 2 мл збагаченого тромбоцитами фібрину (ЗТрФ) і жирової тканини (II сегмент). Тривалість дослідження склала 90 днів. Тварин виводили з експерименту на 30, 60 та 90 добу після введення трансплантатів. Зі спини тварин виділяли ділянку тканини, що включає трансплантат і підлеглі тканини, і готували зрізи за стандартною методикою. У міру приготування зрізів проводили і патоморфологічне вивчення. Морфометричний аналіз виділених тканин проводили за допомогою мікроскопа Leica DM 750 (Німеччина). Використовували морфометричну сітку і лінійку [Автандилов, 1990; Автандилов, 2002]. Визначали середнє значення площі фіброзу і зростання судинного русла.

Список літератури

Запорожан В.Н. Особенности неоангиогенеза при применении обогащенной тромбоцитами плазмы / В.Н.Запорожан, Е.Л.Холодкова, В.А.Цепколенко //Хірургія України. - 2011. - №3. - С. 41-46. Система для концентрування клітин SmartPRP 2 виробництва Harvest technologies Corp. (USA). Свідоцтво про державну реєстрацію №10179/2011 згідно з наказом МОЗ України від 08.02.2011 № 69. Пат. на корисну модель №66402, МПК:

A61B 17/00. Спосіб обробки жирової тканини для подальшого використання її ауто трансплантату / В.Г.Дубініна, В.В.Сажієнко, О.В.Лук, янчук, С.Г.Четверіков; заявник і патентовласник Одеський національний медичний університет. - № 66402; заявл. 30.11.2011; опубл. 26.12.2011, Бюл. №24.

Порівняльна характеристика тканинної реакції на імплантацію поліпропіленових та композитних алотрансплантатів /С.Г.Четверіков, В.Ю.Вододюк, О.В.Сивоколюк [та ін.] //Акту-

альні проблеми сучасної медицини. - 2009. - Т.9, Вип.1. - С. 399-401.

Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) /D.M.Dohan Ehrenfest, T.Bielecki, R.Jimbo [et al.] //Curr. Pharm. Biotechnol. - 2012. - Vol.13(7). - P. 1145-52.

Liao H.T. Application of Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin in Fat

Результати. Обговорення

У результаті проведеного нами морфологічного дослідження отримані наступні дані. Було визначено, що в перший місяць найбільш виражена інфільтрація лімфоцитами і плазмочитами спостерігалася в зоні імплантації композитного сітчастого протеза в поєднанні з жировою тканиною і ЗТрФ. Однак через 2 місяці ця гостра імунна тканинна реакція стає однаковою у всіх досліджуваних зонах пластики. Через 3 місяці кількість клітин імунної відповіді на введені речовини стає різко відмінною. Як результат появи численних фібробластів в місцях імплантації протеза виникають поля фіброзу. Була підрахована середня площа цих ділянок фіброзу в кожній групі. Отримані результати (рис. 1) виразно демонструють, що при поєднанні композитного сітчастого імплантату з ЗТрФ і жировою тканиною сполучна тканина займає меншу площу.

Наступним важливим фактором інтеграції синтетичного імплантату в навколишні тканини, крім відсутності надлишкового фіброзу, є ступінь васкуляризації сформованого комплексу протез - сполучна тканина. Було підраховано по 10 полів зору діаметром 1мм в кожному випадку всіх трьох контрольних груп. Середнє значення визначалося в кожній групі всіх трьох етапів експерименту.

При введенні КСІ в поєднанні з ЗТрФ і ЖТ, вже починаючи з першого місяця бачимо збільшення середньої кількості судин у вогнищі експерименту, яке значно зростає до 3 місяця (рис 2.). Очевидно, що введення ЗТрФ стимулює неоангіогенез за рахунок пролонгованої дії регенеративних цитокінів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Застосування конструкції на основі збагаченого тромбоцитами фібрину і жирової тканини позитивно впливає на інтеграцію в біологічних тканинах двокомпонентного композиційного сітчастого імплантату у вигляді зменшення перипротезного фіброзу і поліпшення периферичної ревазуляризації.

В подальшій перспективі ці дані будуть використовуватися у подальшому клінічному лікуванні хворих на вентральні грижі з застосуванням алотрансплантатів.

Grafting: Basic Science and Literature Sep 4. [Epub ahead of print].
 Review /H.T.Liao, K.Marra, P.J.Rubin Prognosis factors in incisional hernia
 //Tissue Eng Part B Rev. - 2013. - surgery : 25 years of experience /

C.Langer, A.Schaper, T.Liersch [et al.]
 //Hernia. - 2005. - Vol.9, №1. - P.
 16-21.

Четвериков С.Г., Михайлов А.С., Сажинко В.В.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЕНИЯ ДВУКОМПОНЕНТНЫХ КОМПОЗИТНЫХ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОВ ОТДЕЛЬНО И В КОМПЛЕКСЕ С ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМОЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. При использовании композитных сетчатых имплантатов нередко наблюдаются ранние и поздние послеоперационные осложнения, в связи с неспецифической реакцией "на инородное тело" в зоне имплантации. Нами произведен эксперимент на 36 половозрелых самцах линии Вистар. В основе положено изучение морфологических изменений окружающих биологических тканей на композитный сетчатый имплантат с крупными порами "Ultrapro", а также его сочетание с обогащенным тромбоцитами фибрином и жировым трансплантатом. Исследование показало, что при использовании конструкции "сетчатый имплантат, обогащенный тромбоцитами фибрин, жировой трансплантат", инициируются процессы образования и организации соединительной ткани, неоангиогенеза. За счет локального повышения концентрации высокоактивных биологических субстанций и регенеративных цитокинов в сочетании с жировым трансплантатом имеющим в своем составе мультипотентные стволовые клетки, повышается пролиферативная активность всех клеточных элементов окружающих сетчатый имплантат, что ведет к его оптимальной интеграции в окружающие ткани.

Ключевые слова: обогащенный тромбоцитами фибрин, жировой трансплантат, цитокины, мультипотентные стволовые клетки, двухкомпонентный композиционный сетчатый имплантат.

Chetverikov S.G., Mikhaylov A.S., Sazienko V.V.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF APPLICATION OF TWO-COMPONENT COMPOSITE ALLOGRAFTS SEPARATELY AND IN COMPLEX WITH PLATELET-RICH PLASMA IN THE EXPERIMENT

Summary. Early and late postoperative complications often caused after using composite mesh implants, because of non-specific reaction "foreign body" in the area of implantation. We carried out an experiment on 36 adult male Wistar. In the basis of the study there are morphological changes of surrounding biological tissue implant composite mesh with a large pores "Ultrapro", as well as its combination with platelet-rich fibrin and a fat graft. The study showed, when using a mesh structure on the basis of an implant graft and lipid-rich platelet fibrin formation processes are initiated and organization of connective tissue, neoangiogenesis, initiated the formation and organization of the connective tissue, neoangiogenesis. Due to local increase of the concentration of highly active biological substances and regenerative cytokines in combination with fat graft having in its composition multipotent stem cells, increased proliferation activity of the cell elements of the mesh surrounding the implant, which leads to its optimal integration into the surrounding tissue.

Key words: platelet-rich fibrin, fat graft, cytokines, multipotent stem cells, two-component composite mesh implant.

Стаття надійшла до редакції 27.11.2013р.

Четверіков Сергій Геннадійович - д.м.н., проф. кафедри хірургії №1 Одеського національного медичного університету; +38 050 336-43-36; chetverikov@rambler.ru

Михайлов Олександр Сергійович - лікар-хірург 20 поліклініки м. Одеси; +38 063 717-22-00; dr.mikhaylov@gmail.com

Сажинко Володимир В'ячеславович - лікар-хірург Університетської клініки Одеського національного медичного університету

© Польовий В.П., Павлович К.В., Сидорчук Р.І., Паляниця А.С., Волянчук П.М., Карлійчук О.О.

УДК: 616-001.4-008.87+616.153.962.4-008.61:616.379-008.64]-092.9

Польовий В.П., Павлович К.В., Сидорчук Р.І., Паляниця А.С., Волянчук П.М., Карлійчук О.О.

Буковинський державний медичний університет, кафедра загальної хірургії (вул. Фастівська, 2, м. Чернівці, Україна, 59003)

ДИНАМІКА ЗМІН МІКРОБІОТИ БІОПЛІВКИ РАН, ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ ТА ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ КРОВІ У ЩУРІВ ІЗ ЗМОДЕЛЬОВАНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ПІД ВПЛИВОМ КОМПОЗИЦІЇ "СОРБЕНТ-АНТИБІОТИК"

Резюме. З метою відтворення адекватного клінічному прототипу патологічного процесу нами розроблений власний спосіб моделювання гнійної рани із заданою мікрофлорою у 55 лабораторних щурів, що здійснюється шляхом введення у скарифіковану міжлопаткову зону заданої кількості мікроорганізмів, який відрізняється тим, що мікроорганізми фіксуються у підшкірній клітковині за допомогою капшуків шва на підготовленому силікогелевому контейнері. Особливістю динаміки змін мікрофлори біоплівки в експерименті є те, що відбуваються певні зміни як її якісного, так і кількісного складу, в основному за рахунок збільшення патогенетичного значення умовно патогенних факультативних анаеробних та аеробних мікроорганізмів, серед яких слід виділити кишковупаличку, псевдомонади та інші ентеробактерії. Застосування композиції "сорбент-антибіотик" суттєво впливало на показники ферментативної активності біоплатів ділянки гнійного процесу.

Ключові слова: гнійно-некротичний процес, моделювання, протеоліз-фібриноліз, сорбент.