

Түйіндеме

ЛИПОФИЛИНГ ҮШІН ТРОМБОЦИТТЕРМЕН БАЙЫТЫЛҒАН ПЛАЗМАНЫ ОПЕРАЦИЯ АЛДЫНДА ҚОЛДАНУ

Илона Л. Пак¹, <https://orcid.org/0000-0002-4388-1982>

Мейрамбек С. Аскараров¹, <https://orcid.org/0000-0002-5978-2989>

Дмитрий А. Ключев¹, <https://orcid.org/0000-0003-2012-2227>

Евгений К. Камышанский¹, <https://orcid.org/0000-0001-8975-3612>

¹ «Қарағанды медицина университеті» КЕАҚ,
Қарағанды қ., Қазақстан Республикасы.

Өзектілігі: Липофилинг күн сайын адам денесінің кез келген бөлігін дерлік көлемде толтырудың танымал әдісіне айналуға. Дегенмен, майлы тіндерді толтырғыш ретінде пайдалану май жасушаларының талшықты алмасуы және апоптозы нәтижесінде май трансплантатының төмен өмір сүру деңгейі түрінде ұзақ мерзімді перспективада өзінің шектеулеріне ие.

Мақсаты: бұл зерттеудің мақсаты стандартты липофилинг протоколы бар топтарда және қояндардағы тромбоциттерге бай плазмамен имплантация аймағын имплантацияға дейін өңдеу кезінде май трансплантатының өмір сүру жылдамдығын салыстырмалы морфологиялық бағалау болды.

Әдістері: ғылыми жұмыста 24 аталық қоян қолданылды, оларда құлақ қалқаншасы аймағына майлы аутоотрансплантат тері астына имплантация жасалды. Барлық жағдайлар тромбоциттерге бай плазмамен емдеу әдісіне байланысты 3 топқа бөлінді. 3 ай (90 күн) экспозициядан кейін май аутоотрансплантатының макроскопиялық және гистологиялық зерттеуі жүргізілді.

Нәтижелер: имплантация аймағын операцияға дейінгі және аутоотрансплантаттың операция ішілік өңдеу топтарын интраоперациялық ем жүргізбеген топпен салыстырғанда көлемнің статистикалық маңызды сақталуы және гистологиялық қалыпты май аутоотрансплантаты байқалды.

Қорытынды: тромбоциттерге бай плазманы имплантация алдында қолдану операция ішілік өңдеудің стандартты әдісін айтарлықтай жақсартады, имплантация аймағында гипоксиялық-ишемиялық, фиброздық және қабыну зақымдану дәрежесінің төмендеуімен ангиогенезді жоғарылату арқылы аутоотрансплантат майының өмір сүру жылдамдығын арттырады.

Түйінді сөздер: липофилинг, PRP, гистология, имплантация, талдау, майлы тін, эксперимент, фрагмент.

Библиографическая ссылка:

Пак И.Л., Аскараров М.С., Ключев Д.А., Камышанский Е.К. Предоперационное применение плазмы обогащенной тромбоцитами при липофилинге // Наука и Здоровоохранение. 2023. 3(Т.25). С. 55-63. doi 10.34689/SH.2023.25.3.007

Pak I.L., Askarov M.S., Klyuev D.A., Kamyshansky E.K. Preoperative use of platelet-rich plasma for lipofilling // Nauka i Zdravookhranenie [Science & Healthcare]. 2023, (Vol.25) 3, pp. 55-63. doi 10.34689/SH.2023.25.3.007

Пак И.Л., Аскараров М.С., Ключев Д.А., Камышанский Е.К. Липофилинг үшін тромбоциттермен байытылған плазманы операция алдында қолдану // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2023. 3 (Т.25). Б. 55-63. doi 10.34689/SH.2023.25.3.007

Введение

Главный недостаток жировой аутоотрансплантации - это низкая выживаемость трансплантата, вызывающая необходимость повторных трансплантаций. Через 3 месяца после оперативного вмешательства остаточный объем жирового трансплантата составляет от 20% до 80-90% введенного объема [19,7]. В научной литературе существует три основных гипотезы об этиологии и факторах послеоперационного уменьшения объема трансплантата, к ним относят: жизнеспособность введенных жировых клеток, нарушение ангиогенеза и степень фиброза.

Применение аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP), является многообещающим подходом для увеличения выживаемости жирового трансплантата [14,20]. PRP - это концентрированная плазма, полученная из собственной крови пациента, которая содержит высокие концентрации тромбоцитов по сравнению с кровью. Текущее научно

подтвержденное использование PRP включает лечение хронических язв, применение в челюстно-лицевой хирургии, ортопедической и травматологической хирургии, косметической и пластической хирургии, хирургии ожогов. Показано, что местное применение PRP на поврежденной коже животных и человека обладает регенерирующими свойствами.

Цель исследования - изучить влияние предоперационной обработки зоны имплантации PRP и интраоперационного добавления PRP к липотрансплантату на выживаемость трансплантата, его макроскопический и гистологический паттерны в эксперименте на кроликах.

Материалы и методы

Дизайн исследования

Протокол слепого рандомизированного исследования in vivo был одобрен комиссией по биоэтике НАО «Медицинский университет Караганды» (протокол № 53 от 15.03.2021) и контролировался

ветеринаром, чтобы не нарушать этические принципы исследования на животных и избежать травм или страданий. Условия содержания животных во время эксперимента соответствовали международным и национальным рекомендациям [1,2,11].

Размер выборки был рассчитан с использованием метода Монте-Карло с марковскими цепями [3] с учетом наличия животных в виварии клиники медицинского университета, обоснованного увеличения количества случаев и этических соображений по минимизации использования животных в экспериментах.

Животные случайным образом были разделены на три равные группы по 8 животных:

группа без PRP (-/-) - жировой трансплантат без обработки;

группа PRP (-/+) – жировой трансплантат с интраоперационной PRP-обработкой;

группа PRP (+/+) – предоперационная обработка зоны имплантации PRP (за 24 часа до операции в зону имплантации была сделана инъекция 1 мл PRP) и жировой трансплантат с интраоперационной PRP-обработкой (Рисунок 1)

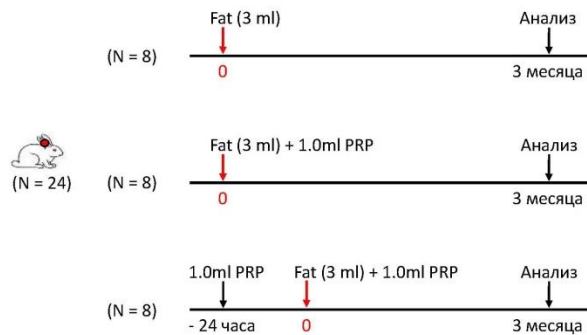


Рисунок 1. Дизайн исследования.
(1. Research design)

Всем животным проведена операция липофилинг по методу Колумана [4-6], забор жировой ткани производился из паховой области кроликов, имплантировался в уши кроликов. Животные были умерщвлены через 3 месяца после хирургического вмешательства. Ни одного животное не умерло в период исследования.

Животные

В работе были использованы 24 самца беспородных белых кроликов в возрасте 5-6 месяцев, массой тела 3.1-3.5кг. Они размещались в клетках по одному животному в стерильной среде с регулируемой температурой 22±2С° с 12-часовым циклом свет/темнота и минимальной относительной влажности 40%. Крыс кормили стандартным гранулированным кормом, доступ к воде был свободным.

Подготовка PRP

PRP получали с использованием специальных пробирок, содержащих 1 мл цитрата натрия в качестве антикоагулянта. 10 мл периферической крови, взятой из краевой вены уха кролика, центрифугировали в течение 10 минут при 1700 G. Использовали средний слой PRP, после этого полученную массу будем центрифугировать при 800 g в течение еще 10 мин, чтобы отделить осадок

PRP от бедной тромбоцитами плазмы, получая PRP с плотностью тромбоцитов 1,2 × 10⁸ клеток [13].

Хирургические процедуры

Все кролики получили одинаковые хирургические процедуры. Общая анестезия индуцировалась с помощью комбинации кетамина 35 мг/кг и ссилазина 5 мг/кг, который вводили внутримышечно. Липоаспират собирали из паховой области животных с использованием канюль с одним центральным и двумя боковыми отверстиями, внутренний диаметр канюли и диаметр каждого из отверстий составлял 3.0мм. Объем липоаспирата измеряли стерильным шприцем. Кожа ушей кроликов была выбрана в качестве реципиентного участка для имплантации жирового аутоотрансплантата. Отсутствие подкожной жировой клетчатки в этой области облегчает иссечение трансплантатов. Подкожная имплантация 3мл (2.76mlg) липоаспирата выполнялась канюлей 3.0мм. Все хирургические вмешательства выполнялись одним и тем же лицом.

Макроскопическое исследование

Жировые аутоотрансплантаты были исследованы в операционной сразу после иссечения и сфотографированы. Жировой аутоотрансплантат из левого уха каждого из животных отделяли от фиброзной ткани и фасций. После визуальной макроскопической оценки измеряли объем жирового трансплантата путём погружения его в мерную пробирку с физиологическим раствором [18,30,31] и затем взвешивали его с помощью настольных электронных весов.

Гистологическое исследование

Подготовка и обработка объектов исследования

Объектом для гистологического исследования являлся иссеченный из контралатерального (правого) уха каждого из животных жировой трансплантат.

После фиксации в 10% формалине материал подвергался обработке химическими реактивами (изопропиловый спирт, ксилол, парафиновая среда) в тканевом процессоре по стандартизованному протоколу лаборатории. После ориентации материала в гистокассетах, материал заливался в парафин с формированием блоков для гистологической нарезки материала.

Окраску гематоксилином и эозином использовали для определения общего морфологического паттерна, оценки воспаления и ангиогенеза.

Для гистологической оценки фиброза использовали окраску трихромом Массона, служащую для обнаружения повышенного количества коллагена.

Гистоморфометрическая оценка гистологичес-кого паттерна, воспаления и ангиогенеза

Морфометрический анализ проводился двумя независимыми исследователями без информации о принадлежности животного к группе и проведенном вмешательстве.

Гистопатологический анализ проводился на продольном сечении жировой ткани, включающем центральную «некротическую» зону и парацентральную «регенерирующую» зону для каждого образца в каждой группе на увеличении x400.

Гистопатологические паттерны:

«физиологическая жировая ткань» - жировая ткань без морфологических отклонений, состоящая из адипоцитов правильной формы и одинакового размера;

«кистозная дегенерация» - жировая ткань, состоящая из кист малого/среднего размера, а также адипоцитов, имеющих больший диаметр по сравнению с нормальными адипоцитами и неправильную форму;

«фиброзная ткань» - аморфная и дезорганизованная соединительная ткань, развивающаяся, как правило, из-за некротического события, а также соединительная ткань, сходная с физиологической соединительной тканью.

Каждый гистопатологический паттерн оценивался на всей площади среза в парацентральной и центральной зоне: 0 баллов – отсутствует, 1 балл – менее 15%, 2 балла – 15-30%, 3 балла – 30-50%, 4 балла – 50-90%, 5 баллов – более 85% площади гистологического среза.

Интерпретация шкалирования паттерна жирового аутооттрансплантата:

0-1 балл - паттерн ткани минимальный или отсутствует;

2-3 балла – фокальный паттерн;

4 балла – диффузный паттерн;

5 баллов – преобладающий паттерн.

Воспаление - количественная оценка воспалительных клеток (полиморфноядерные гранулоциты, лимфоциты и макрофаги) проводилась на всей площади среза парацентральной и центральной зоны: 0 – отсутствует, 1 – до 10 клеток, 2 – от 11 до 30 клеток, 3- от 31 до 50 клеток, 4

– более 50 клеток, подсчет в наиболее изменённом участке гистологического среза $\times 100$.

Ангиогенез оценивали путём подсчёта среднего количества сосудов для каждого образца в центральной и парацентральной зоне в каждой группе на 10 полей зрения на увеличении $\times 10$.

Основные морфометрические измерения и фотографирование проводилось с помощью микроскопа «Carl Zeiss» с цифровым цветным микрофотографированием и программным обеспечением «Image». Гистоморфометрическая оценка гистологических препаратов проводилась слепым методом двумя независимыми патологами на увеличении объектива микроскопа ($\times 40$, $\times 100$), за результат был принят балл, составляющий среднее арифметическое значение.

Статистический анализ

Статистический анализ проводили при помощи критерия χ^2 с поправкой на непрерывность (Йетса), использовался критерий Манна-Уитни. Статистическую обработку данных проводили с использованием IBM SPSS 22.0 (IBM Corp., Armonk, N.Y.). Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты

Макроскопическое исследование выживаемости жировых аутооттрансплантатов. Макроскопическое исследование выживаемости жировых аллотрансплантатов показало гетерогенные морфологические изменения в исследуемых группах (Таблица 1, Рисунок 2).

Таблица 1.

Сравнительная морфологическая характеристика выживаемости массы и объема жирового аллотрансплантата.

(Table 1. Comparative morphological characteristics of the survival rate of the mass and volume of the fat allograft).

	А			В			С			
	без PRP (-/-) n = 8	PRP (-/+) n = 8	p	без PRP (-/-) n = 8	PRP (+/+) n = 8	p	PRP (-/+) n = 8	PRP (+/+) n = 8	p	
Weight	%	15.5 (14.75-18.25)	26.5 (21.75-34.0)	0.005	15.5 (14.75-18.25)	43.5 (38.75-51.0)	0.0001	26.5 (21.75-34.0)	43.5 (38.75-51.0)	0.015
	gr	0.43 (0.41-50.0)	0.73 (0.60-0.94)		0.43 (0.41-50.0)	1.20 (1.07-1.41)		0.73 (0.60-0.94)	1.20 (1.07-1.41)	
Volume	%	8.5 (6.5-10.5)	25.5 (22.8-34.3)	0.0001	8.5 (6.5-10.5)	42.0 (34.25-47.75)	0.0001	25.5 (22.8-34.3)	42.0 (34.25-47.75)	0.010
	ml	0.26 (0.20-0.32)	0.77 (0.68-1.03)		0.26 (0.20-0.32)	1.26 (1.03-1.43)		0.77 (0.68-1.03)	1.26 (0.91-1.43)	

без PRP (-/-) - группа без PRP обработки зоны трансплантации и жирового аллотрансплантата;

PRP (-/+) – группа только с интраоперационной PRP обработкой жирового аллотрансплантата;

PRP (+/+) - группа с предоперационной PRP обработкой зоны трансплантации и интраоперационной PRP обработкой жирового аллотрансплантата.

* данные представлены как Me (Q1; Q3).

Статистически значимыми считались результаты со значениями $p < 0.05$.

В группе аутооттрансплантации жировой ткани без PRP (-/-) макроскопический паттерн жирового аутооттрансплантата характеризовался выраженным снижением массы (сохранение $\approx 1/7$ исходной массы) и еще более значительным уменьшением объема (сохранение $\approx 1/12$ исходной массы) жирового аллотрансплантата (15.5(14.75-18.25) и 8.5(6.5-10.5) % соответственно).

В группе интраоперационной обработки аутооттрансплантата PRP (-/+) макроскопический паттерн

жирового аутооттрансплантата характеризовался сохранением около 1/4 массы и объема жирового аутооттрансплантата (26.5(21.75-34.0) и 25.5(22.8-34.3) % соответственно).

В группе предоперационной обработки зоны имплантации (PRP) и интраоперационной обработки аутооттрансплантата (PRP) наблюдалось сохранение около 1/2 массы и объема жирового аутооттрансплантата (43.5(38.75-51.0) и 42.0(34.25-47.75) % соответственно).

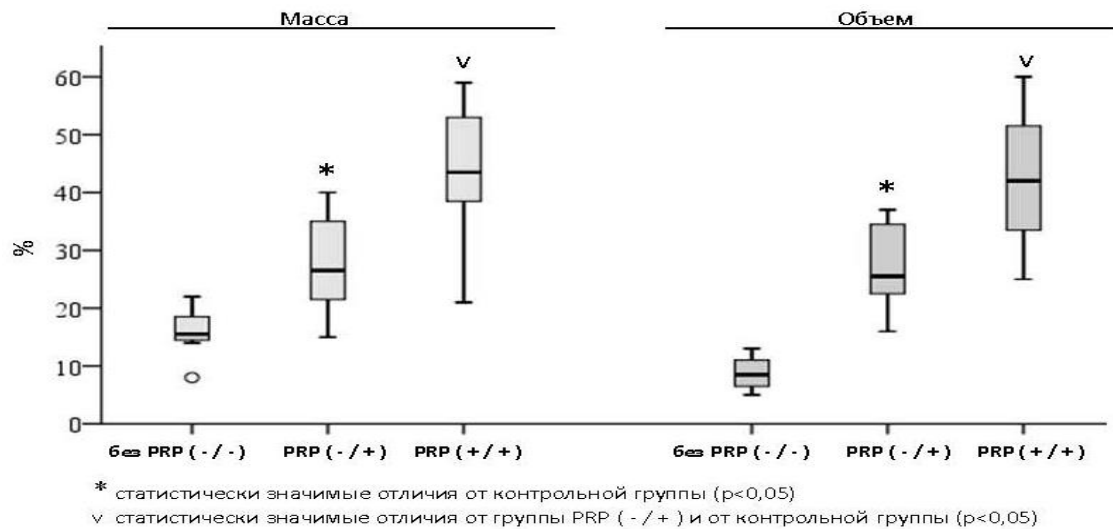


Рисунок 2. Сравнительная морфологическая характеристика выживаемости жировых аллотрансплантатов.
 (Figure 2. Comparative morphological characteristics of the survival rate of fat allografts).

Гистологическое исследование

Сравнительная гистоморфометрическая оценка гистологического паттерна жирового аллотрансплантата в экспериментальных группах исследования

В группе аутотрансплантации жировой ткани без PRP (-/-) гистологический паттерн в центральной и парацентральной зоне жирового аутотрансплантата характеризовался абсолютным преобладанием фиброзной ткани над жировой тканью. Среднее значение площади фиброзной ткани составило 3.63±0.52, что характерно для крупноочагового и диффузного повреждения. Диффузное повреждение наблюдалась в 5 случаях (62.5%), фокальное 3 в случаях (37.5%).
 В группе интраоперационной обработки аутотрансплантата PRP (-/+) гистологический паттерн в центральной и парацентральной зоне жирового аутотрансплантата характеризовался умеренным преобладанием жировой ткани над фиброзной тканью. Морфологически жировая ткань преимущественно состояла из адипоцитов правильной формы и одинакового размера. Среднее значение площади физиологической жировой ткани составило 3.88±0.64: в 1 случае (12.5%) физиологическая жировая ткань была преобладающим паттерном, в 5 случаях (62.5%) диффузным паттерном, в 2 случаях (25%) была представлена фокально. Кистозная дегенерация с формированием мелких кист была представлена фокально 1.38±0.52. Фиброзная ткань была представлена единичными тяжами с миксоидной дегенерацией, расположенными преимущественно в центральной зоне. Среднее значение площади фибротического повреждения ткани составило 1.13±0.64, что характерно для минимального и фокального

повреждения. Минимальное повреждение наблюдалась в 5 случаях (62.5%), фокальное повреждение в 2 случаях (25.0%). В 1 случае (12.5%) фиброза выявлено не было.

В группе аутотрансплантации жировой ткани с предоперационной PRP обработкой зоны трансплантации и интраоперационной PRP обработкой жирового аллотрансплантата (+/+) гистологический паттерн в центральной и парацентральной зоне жирового аутотрансплантата характеризовался преимущественно физиологической жировой тканью без морфологических отклонений. Среднее значение площади физиологической жировой ткани составило 4.38±0.74: в 4 случаях (50%) физиологическая жировая ткань была преобладающим паттерном, в 3 случаях (37.5%) диффузным паттерном, в 1 случае (12.5%) жировая ткань была представлена фокально. Среднее значение площади фибротического повреждения ткани составило 0.63±0.74, что характерно для отсутствия и минимального повреждения. В 4 случаях (50%) в центральной и парацентральной зонах жирового аутотрансплантата фиброз отсутствовал и в остальных случаях отмечался минимальный нитевидный паттерн фиброзных септ, разделяющие жировую ткань на псевдодольки.

Сравнительная гистоморфометрическая характеристика реактивного воспалительного паттерна. В группе аутотрансплантации жировой ткани без PRP (-/-) в 7 случаях (87.5%) было выявлено хроническое неактивное воспаление: очаговое (балл 2) в 37.5% случаев и в 50 % случаев наблюдались только рассеянные единичные воспалительные клетки (балл 1).
 В группе интраоперационной обработки аутотрансплантата PRP (-/+) в 4 случаях (50%) наблюдались единичные лимфоциты (балл 1), в 4 случаях (50%) иммунных воспалительных клеток не наблюдалось.

В группе аутотрансплантации жировой ткани с предоперационной PRP обработкой зоны трансплантации и интраоперационной PRP обработкой жирового аутотрансплантата (+/+) в 3 случаях (37.5%) наблюдались единичные лимфоциты (балл 1), в 5 случаях (37.5%) иммунные воспалительные клетки отсутствовали.

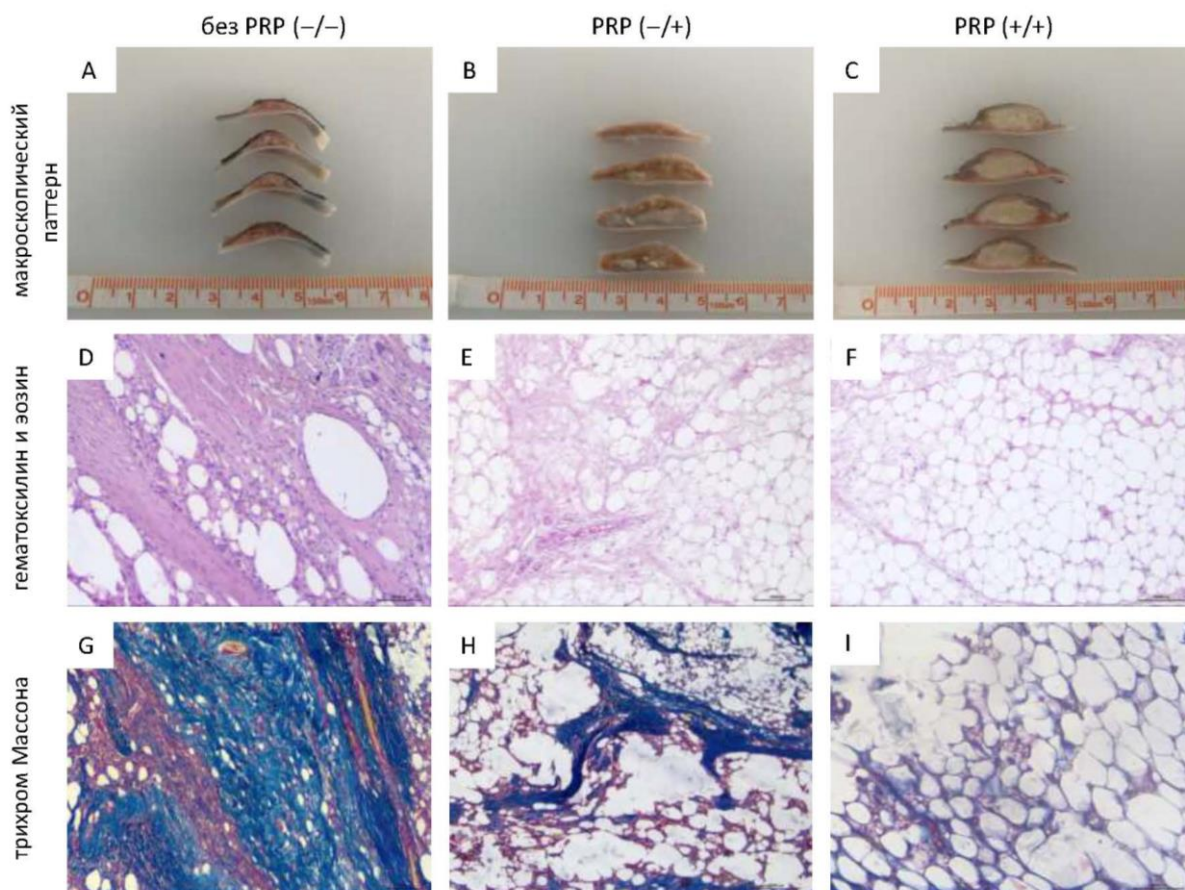


Рисунок 2. Макроскопический и гистологический паттерны через 3 месяца после липотрансплантации.

(Figure 2. Macroscopic and histological patterns 3 months after lipotransplantation).

D, G - диффузный фиброз, представленный аморфной и дезорганизованной соединительной тканью с единичными адипоцитами и жировыми крупными вакуолями, образованными из разрушенных адипоцитов и очаговыми скоплениями иммунных воспалительных клеток.

E, H - физиологическая жировая ткань с очаговой кистозной дегенерацией и тяжистыми разрастаниями соединительной ткани с миксоидной дегенерацией и пучками тонкостенных микрососудов.

F, I - преимущественно физиологическая жировая ткань без морфологических отклонений, состоящая из адипоцитов правильной формы и одинакового размера, с единичными кистами, микрососудами и очаговыми разрастаниями соединительной ткани.

Сравнительная гистоморфометрическая характеристика ангиогенеза

В группе аутоперитрансплантации жировой ткани без PRP (-/-) и группе интраоперационной обработки аутоперитрансплантата PRP (-/+) отмечались единичные, неравномерно распределенные преимущественно в парацентральной зоне, тонкостенные сосуды микрососуды (1.63 ± 0.91 и 2.25 ± 0.46). В группе группа с предоперационной PRP обработкой зоны трансплантации и интраоперационной PRP обработкой жирового аутоперитрансплантата (+/+) отмечались пучки сосудов (4.88 ± 1.81), распределенные более равномерно и расположенные как в центральной, так и парацентральной зонах жирового аутоперитрансплантата.

Обсуждение

В данном исследовании проведена сравнительная оценка выживаемости жирового аутоперитрансплантата с характеристикой макроскопического и гистологического паттернов центральной и парацентральной зоны трансплантата при предоперационной PRP-обработке зоны имплантации и интраоперационной PRP-обработке трансплантата в эксперименте на кроликах.

Во-первых, мы показали, что применение метода предоперационной PRP-обработки зоны имплантации улучшает выживаемость жирового аутоперитрансплантата в сравнении с группой без PRP обработки ($p=0.0001$ и $p=0.0001$ для массы и объема соответственно) и группой с интраоперационной PRP-обработкой жирового трансплантата ($p=0.015$ и $p=0.01$ для массы и объема соответственно).

Ранее несколько исследований на животных продемонстрировали положительное влияние PRP на исход жирового трансплантата [16,23,24,25,26]. Мы полагаем, что в нашем исследовании механизм улучшения выживаемости жировой ткани может быть связан с взаимным синергическим усилением действия PRP-обработки места имплантации предоперационно и обработки жирового трансплантата интраоперационно.

Во-вторых, мы показали, что предоперационная PRP-обработка зоны имплантации улучшает гистологический паттерн жирового аутоперитрансплантата за счет меньшего образования фиброза и минимизации воспалительной активности ($p<0.05$). В группе PRP (-/-), центральная и парацентральная области имплантата, не занятые интактными адипоцитами через

3 месяца были заняты фиброзом или кистами. Эти вакуоли и кисты, возникающие из разрушенных адипоцитов возможно, будут резорбированы макрофагами и позже вызовут фиброз. Это еще больше уменьшит объем остаточного жирового трансплантата. Поскольку мы наблюдали значительно более высокую

долю этих нежелательных тканей в жировых трансплантатах без предимплантационной PRP подготовки, мы полагаем, что более длительный период наблюдения может показать более значительное уменьшение объема жирового трансплантата в группах PRP (-/-) и PRP (-/+).

Таблица 2.

Гистоморфометрическая характеристика жирового аллотрансплантата.

(Table 2. *Histomorphometric characteristics of the fat allograft*).

	A			B			C		
	Без PRP (-/-) n = 8	PRP (-/+) n = 8	<i>p</i>	без PRP (-/-) n = 8	PRP (+/+) n = 8	<i>p</i>	PRP (-/+) n = 8	PRP (+/+) n = 8	<i>p</i>
Гистологические паттерны*									
Физиологическая									
жировая ткань	2.5±0.53	3.88±0.64	0.002	2.5±0.53	4.38±0.74	0.001	3.88±0.64	4.38±0.74	0.195
Кистозная									
дегенерация	3.13±0.83	1.38±0.52	0.001	3.13±0.83	0.50±0.53	0.001	1.38±0.52	0.50±0.53	0.021
Фиброзная ткань	2.25±0.46	1.13±0.64	0.005	2.25±0.46	0.63±0.74	0.001	1.13±0.64	0.63±0.74	0.195
Воспаление**									
Полиморфноядерные									
гранулоциты	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Лимфоциты и макрофаги	1.25±0.71	0.50±0.53	0.065	1.25±0.71	0.38±0.52	0.028	0.50±0.53	0.38±0.52	0.721
Ангиогенез***									
	1.63±0.91	2.25±0.46	0.195	1.63±0.91	4.88±1.81	0.005	2.25±0.46	4.88±1.81	0.010

без PRP (-/-) - группа без PRP обработки зоны трансплантации и жирового аллотрансплантата;

PRP (-/+) – группа только с интраоперационной PRP обработкой жирового аллотрансплантата;

PRP (+/+) - группа с предоперационной PRP обработкой зоны трансплантации и интраоперационной PRP обработкой жирового аллотрансплантата.

* «физиологическая жировая ткань» - жировая ткань без морфологических отклонений, состоящая из адипоцитов правильной формы и одинакового размера;

«кистозная дегенерация» - жировая ткань, состоящая из кист малого/среднего размера, а также адипоцитов, имеющих больший диаметр по сравнению с нормальными адипоцитами и неправильную форму;

«фиброзная ткань» - аморфная и дезорганизованная соединительная ткани, развивающаяся, как правило, из-за некротического события, а также соединительная ткань, сходная с физиологической соединительной тканью.

0 баллов – отсутствует, 1 балл – менее 15%, 2 балла – 15-30%, 3 балла – 30-50%, 4 балла – 50-85%, 5 баллов – более 85% площади гистологического среза.

** 0 – отсутствует, 1 – до 10 клеток, 2 – от 11 до 30 клеток, 3- от 31 до 50 клеток, 4 – более 50 клеток, подсчет в наиболее измененном участке гистологического среза x100

*** среднее количество сосудов на 10 полей зрения x10

данные представлены как M±SD. Статистически значимыми считались результаты со значениями *p* <0,05.

Гистоморфометрический анализ репаративного паттерна не выявил активного воспалительного, аллергического или некротического паттерна в зоне имплантации с применением PRP-обработки трансплантата и места имплантации. В группе PRP (+/+) количество иммунных воспалительных клеток было статистически значимо ниже в сравнении с группой сравнения без PRP (-/-) (*p*=0.028). Биоконкомплекс PRP-трансплантат является биосовместимым и не вызывает иммунологического ответа макроорганизма, а повышенная концентрация факторов в PRP может играть решающую противовоспалительную роль за счет подавления провоспалительного фактора, что улучшает выживаемость жирового трансплантата. Это согласуется с научными данными о том, что PRP обладает противовоспалительными свойствами, которые могут уменьшить воспаление и отек, которые способствуют дегенерации жирового трансплантата [9].

В-третьих, результаты этого исследования убедительно подтверждают гипотезу авторов о том, что применение метода предоперационной PRP-

обработки зоны имплантации увеличивает васкуляризацию зоны имплантации, что улучшает выживаемость жирового трансплантата. При анализе ангиогенеза мы выявили, что относительное количество микрососудов в группе с PRP (+/+) статистически значимо выше в сравнении с группой сравнения без PRP (-/-) (*p*=0.05), а также с группой PRP (-/+) (*p*=0.01). В группе с предоперационной PRP-обработки зоны имплантации микрососуды имели относительно равномерное распределение как в центральной и парацентральной зоне жирового аутоаллотрансплантата, тогда как в группах сравнения активный ангиогенез носил неравномерный и хаотичный характер, преимущественно на периферии.

Полученные данные согласуются с результатами ранее проведенных исследований в которых показано, что PRP вызывал усиление ангиогенеза [8,12,28,29], увеличивая плотность сосудов и улучшая их распределение [10,15,17,21,22,27]. Улучшение ангиогенеза может быть связано с факторами роста, присутствующими в PRP.

Васкуляризация тканей - одно из ключевых условий сохранения жирового трансплантата. Сразу после трансплантации пересаженная жировая ткань претерпевает состояние острой ишемии. Ишемия считается основной причиной гибели адипоцитов в жировых трансплантатах и может сделать клетки нежизнеспособными в течение 24 часов [16]. Объединение жировых трансплантатов с PRP увеличивает реваскуляризацию жировых трансплантатов и повышает долю выживших клеток. Первоначально клетки выживают за счет плазматической диффузии питательных веществ и кислорода из окружающих тканей. Неоваскуляризация начинается примерно через 48 часов после трансплантации за счет вставания и повторного соединения капилляров и сосудов между ложем реципиента и трансплантатом [16].

Часть трансплантата, которая не васкуляризуется в течение первых трех дней некротизируется и образует жировые кисты, фиброз и кальцификаты [10,15,27], приводящие к уменьшению объема имплантированного жира. В нашем исследовании васкуляризация в группе PRP (+/+) была значительно лучше в отличие от групп с PRP (-/+) и без PRP, что способствовало поддержанию объема и выживаемости жирового трансплантата. Это различие можно объяснить тем фактом, что предимплантационная PRP-обработка зоны имплантации, вызывающая предимплантационное местное действие и активацию активных факторов (например, цитокинов, факторов роста), может быть более эффективной для активации и ускорения неоваскуляризации в первые дни после имплантации жирового трансплантата, когда роль и значение кислорода наиболее значима, что имеет решающее значение для выживаемости жировой ткани. Мы полагаем, что механизм улучшения выживаемости жировой ткани может быть связан со взаимным усилением двух компонентов, как предимплантационной PRP-подготовкой, так и интраоперационной PRP-обработкой жирового трансплантата, взаимно улучшающих друг друга.

Таким образом, мы показали, что предимплантационная PRP-обработка зоны имплантации улучшает стандартную методику интраоперационной PRP обработки, повышает потенциал ангиогенеза и уменьшает степень гипоксически-ишемического, фибротического и воспалительного повреждения в зоне жировой аутоотрансплантации в эксперименте на кроликах. Мы полагаем, что основной эффект сохранения гистологического паттерна жировой ткани связан с формированием локо-регионального благоприятного микроокружения с активным перфузионным и диффузионным потенциалом стромального каркаса, что способствует сохранению объема жирового трансплантата.

Вклад авторов:

Пак И.Л. - поиск литературы, сбор данных, статистическая обработка, написание драфт версии, описательная часть, переписка с редакцией журнала.

Камышанский Е.К. - научное руководство, внесение замечаний в драфт версию, утверждение итоговой версии.

Аскар М.С. - систематизация ретроспективных данных, рецензия статьи.

Клюев Д.А. - научное руководство, формальный анализ.

Финансирование: Сторонними организациями финансирования не осуществлялось.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения о публикации: Данный материал не был опубликован в других изданиях и не находится на рассмотрении в других издательствах.

Литература:

1. Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 11 декабря 2020 года № ҚР ДСМ-248/2020. «Об утверждении правил проведения клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий, клинико-лабораторных испытаний медицинских изделий для диагностики вне живого организма (in vitro) и требования к клиническим базам и оказания государственной услуги Выдача разрешения на проведение клинического исследования и (или) испытания фармакологических и лекарственных средств, медицинских изделий» Зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 14 декабря 2020 года № 21772. <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V2000021772/info>, (Дата обращения: 02.04.2022)
2. Стандарт надлежащей лабораторной практики (GLP). Приказ Министра здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от 27 мая 2015 года №392 «Об утверждении надлежащих фармацевтических практик» Зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 30 июня 2015 года № 11506. <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V1500011506>, (Дата обращения: 19.04.2022)
3. *Allgoewer A., Mayer B.* Sample size estimation for pilot animal experiments by using a Markov Chain Monte Carlo approach // *Altern Lab Anim*, (2017). 45(2), pp. 83-90;
4. *Coleman S.R.* Hand rejuvenation with structural fat grafting // *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2002. 110, 1731 discussion 1745.
5. *Coleman S.R.* Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations // *Aesthetic Plastic Surgery*, (1995). 19, p. 421
6. *Coleman S.R.* Structural fat grafts: the ideal filler? // *Clin. Plastic Surgery* (2001). 28, p. 111
7. *Delay E., Garson S., Tousson G. et al.* Fat injection to the breast: technique, results, and indications based on 880 procedures over 10 years // *Aesthet Surg J.*, 2009. 29, pp. 360-376
8. *DeRossi R., Coelho A.C., Mello G.S. et al.* Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses // *Acta Cir Bras*. 2009. Jul-Aug, 24(4):276–281.
9. *El-Sharkawy H., Kantarci A., Deady J. et al.* Platelet-rich plasma: growth factors and pro-and anti-inflammatory properties // *J Periodontol*. 2007. 78: 661-669.
10. *Eto H., Kato H., Suga H. et al.* The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes // *Plast Reconstr Surg*. 2012. May, 129(5):1081–1092
11. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes**. Strasbourg, 18.III.1986. <https://irm.coe.int/168007a67b>, (Дата обращения: 02.02.2023)
12. *Findikcioglu F., Findikcioglu K., Yavuzer R., et al.* Effect of intraoperative platelet-rich plasma and fibrin glue

application on skin flap survival // *J Craniofac Surg*. 2012. Sep, 23(5):1513–1517.

13. *Hersant B., Bouhassira J., SidAhmed-Mezi M., Vidal L., Keophiphath M., Chheangsun B., Niddam J., Bosc R., Le Nezet A., Meningaud J-P., Rodriguez A.M.* // *An International Journal of Surgical Reconstruction, Should platelet-rich plasma be activated in fat grafts? An animal study*, 2018. 71(5), pp. 681-690.

14. *Jin R., Zhang L., Zhang Y.G.* Does platelet-rich plasma enhance the survival of grafted fat? An update review // *Int J Clin Exp Med*. 2013. 6, pp. 252-258

15. *Kato H., Mineda K., Eto H., et al.* Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue remodeling during the first 3 months // *Plast Reconstr Surg*, 2014. 133, pp.303e-313e

16. *Liao H.T. Marra K.G., Rubin J.P.* Application of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in fat grafting: basic science and literature review // 2014. *Tissue Eng Part B Rev*. 20: 267-276

17. *Li Y., Mou S., Xiao P. et al.* Delayed two steps PRP injection strategy for the improvement of fat graft survival with superior angiogenesis // *Sci Rep* (2020). 10, 5231. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61891-6>

18. *Minn K.W., Min K.H., Chang H. et al.* Effects of fat preparation methods on the viabilities of autologous fat grafts // *Aesthetic Plast Surg.*, 2010, vol. 34 (pg. 626-631.

19. *Missana M.C. et al.* Autologous fat transfer in reconstructive breast surgery: indications, technique and results // *Eur J Surg Oncol*, 2007. 33, pp. 685-690

20. *Modarressi A.* Platelet rich plasma (PRP) improves fat grafting outcomes // *World J Plast Surg*, 2013. 2, pp. 6-13.

21. *Nakamura S., Ishihara M., Takikawa M., et al.* Platelet-rich plasma (PRP) promotes survival of fat-grafts in rats // *Ann Plast Surg*, 2010. 65, pp.101-106

22. *Nishimura T., Hashimoto H., Nakanishi I., Furukawa M.* Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts // *Laryngoscope*. 2000. Aug, 110(8):1333-8. doi: 10.1097/00005537-200008000-00021. PMID: 10942136.

23. *Oh D.S., Cheon Y.W., Jeon Y.R. et al.* Activated platelet-rich plasma improves fat graft survival in nude mice: a pilot study // *Dermatol Surg*. 2011. 37: 619-625

24. *Pires Fraga M.F., Nishio R.T., Ishikawa R.S. et al.* Increased survival of free fat grafts with platelet-rich plasma in rabbits // *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010. 63: e818-e822

25. *Por Y.C., Yeow V.K., Louri N. et al.* Platelet-rich plasma has no effect on increasing free fat graft survival in the nude mouse // *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009. 62: 1030-1034

26. *Rodriguez-Flores J., Palomar-Gallego M.A., Enguita-Valls A.B. et al.* Influence of platelet-rich plasma on the histologic characteristics of the autologous fat graft to the upper lip of rabbits // *Aesthetic Plast Surg*. 2011. 35: 480-486

27. *Serra-Mestre J.M., Serra-Renom J.M., Martinez L., et al.* Platelet-rich plasma mixed-fat grafting: a reasonable

prosurvival strategy for fat grafts // *Aesthetic Plast Surg*, (2014). 38, pp.1041-1049

28. *Sönmez T.T., Vinogradov A., Zor F. et al.* The effect of platelet rich plasma on angiogenesis in ischemic flaps in VEGFR2-luc mice // *Biomaterials*. 2013. Ap, 34(11):2674–2682.

29. *Takikawa M., Sumi Y., Ishihara M. et al.* PRP&F/P MPs improved survival of dorsal paired pedicle skin flaps in rats // *J Surg Res*. 2011. Sep, 170(1):e189–96.

30. *Thanik V.D., Chang C.C., Lerman O.Z. et al.* A murine model for studying diffusely injected human fat // *Plast Reconstr Surg*. 2009. 124:74e81

31. *Torio-Padron N., Paul D., von Elverfeldt D., Stark G.B., Huotari A.M.* Resorption rate assessment of adipose tissue-engineered constructs by intravital magnetic resonance imaging // *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011. Jan, 64(1):117e22

References: [1-2].

1. *Prikaz Ministra zdavookhraneniya Respubliki Kazakhstan ot 11 dekabrya 2020 goda № ҚР DSM-248/2020. «Ob utverzhenii pravil provedeniya klinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv i meditsinskikh izdelii, kliniko-laboratorykh ispytaniy meditsinskikh izdelii dlya diagnostiki vne zhivogo organizma (in vitro) i trebovaniya k klinicheskim bazam i okazaniya gosudarstvennoi uslugi Vydacha razresheniya na provedenie klinicheskogo issledovaniya i (iii) ispytaniya farmakologicheskikh i lekarstvennykh sredstv, meditsinskikh izdelii»* Zaregistrovan v Ministerstve yustitsii Respubliki Kazakhstan 14 dekabrya 2020 goda № 21772 [Order of the Minister of Health of the Republic of Kazakhstan dated December 11, 2020 No. ҚР ДСМ-248/2020. "On approval of the rules for conducting clinical trials of medicines and medical devices, clinical and laboratory tests of medical devices for diagnostics outside a living organism (in vitro) and requirements for clinical facilities and the provision of public services Issuance of a permit for conducting clinical trials and (or) testing of pharmacological and medicinal products, medical devices" Registered with the Ministry of Justice of the Republic of Kazakhstan on December 14, 2020 No. 21772]. <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V2000021772/info>, (accessed: 02.04.2022)

2. Standart nadlezhashchei laboratornoi praktiki (GLP). *Prikaz Ministra zdavookhraneniya i sotsial'nogo razvitiya Respubliki Kazakhstan ot 27 maya 2015 goda №392 «Ob utverzhenii nadlezhashchikh farmatsevticheskikh praktik»* Zaregistrovan v Ministerstve yustitsii Respubliki Kazakhstan 30 iyunya 2015 goda № 11506 [Good Laboratory Practice (GLP) standard. Order of the Minister of Health and Social Development of the Republic of Kazakhstan dated May 27, 2015 No. 392 "On Approval of Good Pharmaceutical Practices" Registered with the Ministry of Justice of the Republic of Kazakhstan on June 30, 2015 No. 11506]. <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V1500011506>, (accessed: 19.04.2022)

Контактная информация:

Пак Илона Леонидовна - докторант PhD, НАО «Медицинский Университет Караганды», Республика Казахстан;

Почтовый индекс: 050006, Республика Казахстан, г. Караганда, ул. Гоголя, 40

Email: dr.park@bk.ru

Телефон: 8 700 740 99 99