ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Klinichna khirurgiia. 2019 November-December;86(11-12):69-71.
DOI: 10.26779/2522-1396.2019.11-12.69

Вплив імпульсного електрофорезу плазми крові на загоювання ран та формування рубцевої тканини в експерименті

Г. В. Терехов¹, М. В. Чухраєв², М. В. Кости́лев¹, С. П. Галич¹, О. Ю. Фурманов¹,
І. М. Савицька¹, О. А. Гейленко¹

¹Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова НАМН України, м. Київ,

²ТОВ «Науково-методичний центр «МЕДІНТЕХ», м. Київ

Impact of the impulse electrophoresis of the blood plasma on the wounds healing and formation of cicatricial tissue in experiment

G. V. Terehov¹, M. V. Chukhraiev², M. V. Kostylev¹, S. P. Galych¹, O. Yu. Furmanov¹,
I. M. Savytska¹, O. A. Geylenko¹

¹O. O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology, Kyiv,

²Scientific-Methodic Centre «MEDINTECH» Ltd, Kyiv

Реферат

Мета. Вивчити в експерименті вплив методу імпульсного електрофорезу плазми крові на процес загоювання післяопераційних ран.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на 15 білих щурах, яким під внутрішньочеревним наркозом в асептичних умовах виконували розріз шкіри та м'язів стегна, після чого рану зашивали пошарово вузловими швами наглухо. В основну групу включили 10 тварин, яким на 4, 7, 10-ту та 14-ту добу після операції застосували трансдермальне введення плазми крові методом імпульсного електрофорезу. В контрольну групу включили 5 білих щурів, яким після операції трансдермального введення плазми крові не застосовували. У всіх тварин рани загоїлись первинно. На 19-ту добу після операції тварин вивели з експерименту, ділянки шкіри в зоні шва дослідили гістологічними методами.

Результати. У тварин основної групи спостерігали зрощення хірургічного розрізу шкіри та м'язів стегна з формуванням нормотрофічних рубців. У тварин контрольної групи на 19-ту добу в зоні оперативного втручання був сформований гіпертрофічний рубець.

Висновки. В експериментальному дослідженні у тварин основної групи підтверджене більш якісне загоювання ран з формуванням нормотрофічного рубця при застосуванні трансдермального введення плазми крові методом імпульсного електрофорезу.

У тварин основної групи не відбувалося надлишкового колагеноутворення, що приводило до формування більш тонкого й ніжного рубця, який до кінця експерименту ставав малопомітним.

Ключові слова: післяопераційний рубець; імпульсний електрофорез; регенерація тканин; колагеноутворення.

Abstract

Objective. To study in experiment the impact of the impulse electrophoresis of the blood plasma method on the wounds healing process in postoperative wounds.

Materials and methods. The investigations were conducted on 15 white rats, to which in aseptic environment under intraabdominal narcosis the hip surgical access through the skin and muscles was conducted with subsequent layered closure of the wound, using separate knots. Ten laboratory animals were included into the main group, in whom transdermal introduction of the blood plasma, using the impulse electrophoresis method, was conducted on the 4th, 7th, 10th and 14th postoperative days. Into a control group 5 white rats were included, in which transdermal introduction of the blood plasma was not applied postoperatively. In all the laboratory animals the wounds have healed primarily. On the 19th day postoperatively the laboratory animals were extracted from the experiment, and the near suture skin was investigated, using histological methods.

Results. The surgical access healing in the hip skin and muscles with formation of normotrophic cicatrices was observed in the main group of the laboratory animals. Hypertrophic cicatrix in the operative intervention zone have been formatted in the laboratory animals of a control group on the 19th postoperative day.

Conclusion. More qualitative healing of the wounds with formation of normotrophic cicatrix while application of transdermal introduction of the blood plasma, using the impulse electrophoresis method, was confirmed in experimental investigation in laboratory animals of the main group.

Excessive creation of collagen was omitted in the laboratory animals of the main group, what have promoted formation of more thin and tender cicatrix, which have become slightly visible up to the end of experiment.

Keywords: postoperative cicatrix; the impulse electrophoresis; regeneration of tissues; creation of collagen.

У медичній практиці давно приділяється увага крові як фактору стимуляції відновних процесів в організмі, особливо використанню її аутологічної тромбоцитарної фракції [1]. У численних дослідженнях продемонстровано, що тромбоцити завдяки вмісту факторів росту та інших біологічно активних речовин не тільки впливають на загоювання пошкодженої тканини, а й стимулюють трансмембранне проникнення білків, вуглеводів, мікроелементів та вітамінів, що сприяє активації мітохондрій та факторів біологічного самовідновлення пошкоджених клітин [2, 3]. Проведені імунохімічні дослідження показали, що введення плазми крові має стимулюючий вплив на процеси метаболізму [4]. У той же час існуючий метод ін'єкційного введення плазми крові має певні вади. Це, зокрема, механічне пошкодження тканини, що супроводжується утворенням геморагій, набряком сполучної тканини та болісністю виконання процедури. Ряд дослідників застосовували безін'єкційне трансдермальне введення плазми крові методом імпульсного електрофорезу, який не має вад способу ін'єкційного введення плазми [5–7].

Мета дослідження: вивчення впливу методу імпульсного електрофорезу плазми крові на процес загоювання післяопераційних ран у піддослідних тварин.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені у відділі експериментальної хірургії Національного інституту хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова НАМН України спільно зі співробітниками ТОВ «Науково-методичний центр «МЕДІНТЕХ». Для проведення експериментальних досліджень було використано дві групи білих щурів масою тіла ($275,5 \pm 15,1$) г. У контрольну групу включили 5 щурів, в основну – 10. Тваринам обох груп під тиопенталовим наркозом виконували розріз шкіри та м'язів стегна зліва довжиною 2 см, після чого рану пошировано ушивали ниткою Prolen™ 5–0. На 4, 7, 10–ту та 14–ту добу після операції тваринам основної групи після введення їх у наркоз виконували обробку зовнішньої поверхні рани плазмою крові людини групи I (0). Тваринам контрольної групи після

оперативного втручання не виконували ніяких процедур.

Трансдермальне введення плазми крові здійснювали за модифікованим способом [5]. Через те що у щурів неможливо набрати необхідну для виконання цієї процедури достатню кількість аутокрові, використовували плазму крові людини групи I (0). Для цього 20,0 мл цільної крові з додаванням розчину цитрату натрію центрифугували при 4 000 обертів за 1 хв протягом 10 хв, потім шар плазми, який був збагачений тромбоцитами, видаляли пастерівською піпеткою. На виголену поверхню шкіри піддослідної тварини в зоні хірургічної рани наносили з піпетки 1 мл плазми крові, після чого здійснювали трансдермальне введення плазми крові. Процедуру проводили із застосуванням приладу МІТ–ЕФ2 виробництва ТОВ «НМЦ «МЕДІНТЕХ», допрацьованого для проведення експериментальних досліджень. Плазму вводили при застосуванні однополярних імпульсних струмів тривалістю 0,4 мс, частота повторення імпульсів становила 37 Гц, сила струму – ($0,7 \pm 0,1$) мА, площа електрода – 3 см². Індукція магнітного поля на поверхні електрода становила (270 ± 50) мТл. Процедуру виконували протягом 10 хв з періодичністю 2 рази на тиждень.

Усього виконали 4 процедури.

З експерименту тварин виводили на 19–ту добу після втручання внутрішньочеревним введенням надлишку 5,0% розчину тіопенталу натрію.

Для гістологічних досліджень ділянки шкіри в області ран висікали та фіксували їх у 10,0% розчині забуференого нейтрального формаліну, потім ущільнювали в парафіні за загальноприйнятою методикою. Зрізи товщиною 7 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за Ван–Гізоном, застосовували ШИК–реакцію.

Результати

У тварин контрольної групи епідерміс був відновлений, не потовщений, рубець сформований зрілою сполучною тканиною з ознаками помірного колагеноутворення, колагенові волокна розташовувались переважно хаотично (рис. 1), ширина рубця становила ($1295,95 \pm 119,67$) мкм.

Рис. 1.

Зона рубця на шкірі спини у білого щура контрольної групи. Забарвлення пікрофуксином за Ван–Гізоном. $\times 40$.

Рис. 2.

Зона рубця на шкірі спини білого щура основної групи. Забарвлення пікрофуксином за Ван–Гізоном. $\times 40$.

Ознаки запалення в зоні рубця були слабо виражені, у навколишніх тканинах практично не відзначались. Під епідермісом у тканині рубця та навколишньому сітчастому шарі дерми відзначались невеликі скупчення тканинних базofilів по 4 – 6 клітин з підвищеним рівнем дегрануляції. Рубець був гіпертрофічний з одиничними волосяними фолікулами по периферії. Спостерігалась позбавлена епідермісу невелика ділянка рубця.

У тварин основної групи епідерміс був відновлений, на деяких ділянках дещо потовщений. Рубець, сформований зрілою сполучною тканиною, був вузький, нормотрофічний (рис. 2), шириною ($455,26 \pm 46,71$) мкм, в ньому відзначались менш численні, ніж на інтактних ділянках, волосяні фолікули, вони були розташовані неглибоко в порівнянні з навколишніми ділянками дерми. В рубцевій тканині та навколо відзначались поодинокі тканинні базофіли переважно без ознак дегрануляції.

Обговорення

У тварин контрольної групи сформувалися переважно гіпертрофічні рубці, у тварин основної групи – нормотрофічні, ширина яких була в 2,8 рази менша, ніж у тварин контрольної групи.

У тварин основної групи спостерігалось більш повноцінне відновлення шкіри: епідерміс був без особливостей, як на інтактних ділянках. Сосочковий шар був дещо ущільнений у порівнянні з інтактними ділянками, однак без деформації та вираженого колагеноутворення. Рубець був вузьким, нещільним, як це спостерігалось у тварин контрольної групи, крім того, в рубцевій тканині відзначались волосяні фолікули, чого не було у тварин контрольної групи.

У тварин основної групи були менш виражені ознаки запалення в області післяопераційного втручання. У тварин контрольної групи спостерігалась більш виражена лімфоцитарна інфільтрація, а також були збільшені кількість тканинних базofilів та рівень їх дегрануляції. У тварин основної групи тканинні базофіли переважно не мали ознак дегрануляції, що свідчило про більш фізіологічне підвищення активності. У тварин контрольної групи колагенові волокна розташовувалися хаотично, мали різну товщину, тобто відзначалися як тонкі, так і товсті волокнисті структури. У тварин основної групи колагенові волокна були орієнтовані переважно тангенціально, мали приблизно однакову товщину та розташовувалися впорядковано, що свідчило про більш якісне загоювання ран. Крім того, аморфна міжклітинна речовина була багатша на глікопротеїди.

Більш активна реваскуляризація зони ран спостерігалась у тварин основної групи. Щільність судин гемомікроциркуляторного русла у цих тварин була вищою, ніж у тварин контрольної групи, проте меншою, ніж на інтактних ділянках, тобто рівень васкуляризації у тварин основної групи був майже відновлений.

При електрофоретичному введенні плазми у тварин основної групи не спостерігали ускладнень, притаманних ін'єкційним втручанням: набряків, крововиливів. Завдяки

цьому досягалась висока ефективність виконання процедури для прискорення процесів регенерації сполучної тканини в ділянці післяопераційних рубців.

Отримані результати свідчать про перспективність даного напрямку досліджень, проте з'ясування механізму дії імпульсного електрофорезу на клітинного рівні потребує додаткових спеціальних і більш тонких методів.

Висновки

1. В експериментальному дослідженні підтверджене у тварин основної групи більш якісне загоювання ран з формуванням нормотрофічного рубця при застосуванні трансдермального введення плазми крові методом імпульсного електрофорезу.

2. У тварин основної групи не відбувалося надлишкового колагеноутворення, що сприяло формуванню більш тонкого й ніжного рубця, який до кінця експерименту ставав малопомітним.

Підтвердження

Фінансування. Дослідження є фрагментом пошукової роботи, яка фінансувалася коштом авторів.

Участь авторів. Терехов Г. В. – планування експериментальних досліджень, виконання хірургічних втручань; Чухраєв М. В. – концепція і дизайн дослідження, обґрунтування технічного виконання; Костилов М. В. – постановка завдання на проведення експерименту, аналіз отриманих даних, редагування статті; Галич С. П. – опрацювання матеріалів, аналіз отриманих даних; Фурманов О. Ю. – аналіз даних, редагування статті; Савицька І. М. – опрацювання матеріалів, написання тексту; Гейленко О. А. – опрацювання гістологічного матеріалу.

References

1. Steed DL. Modifying the wound healing response with exogenous growth factors. Clinics in Plastic Surgery. 1998;25(3):397–405 PMID: 9696900.
2. Lopez-Vidriero E, Goulding KA, Simon DA. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: optimizing the healing environment. Arthroscopy. 2010. 26(2): 269–78. doi.org: 10.1016/j.arthro.2009.11.015.
3. Stellos K, Kopf S, Paul A, Marquardt JU, Gawaz M, Huard J, et al. Platelets in regeneration. Semin Thromb Hemost. 2010;36(2): 175–84. doi.org: 10.1055/s-0030-1251502.
4. Ahmerov R, Zarudij R, Rychkova I, Bochkova O. Vyjavlenie Ki-67 pozitivnyh kletok v epidermise i salno-volosianom komplekse kozhi golovy do i posle lecheniya trombocitarnoj autoplazmoj. Yesteticheskaya medicina. 2014;4(13):555. [In Russian].
5. Chukhraev MV, Terehov GV, Dmitrenko IP, vinahidnyky; Chukhraev MV, Terehov GV, Dmitrenko IP, patentovlasnyky. Sposib likuvannya psoriaticznego urazhennya. Patent Ukrainy No 123508. 2018 Lut 26. [In Ukrainian].
6. Galych SP, Chuhraev MV, Terehov GV, Dmitrenko IP, vinahidnyky; Galych SP, Chuhraev MV, Terehov GV, Dmitrenko IP, patentovlasnyky. Sposib likuvannya ptozu oblichchya pislya cerebrovaskuliarnoi hvorobi. Patent Ukrainy No 123509. 2018 Lut 26. [In Ukrainian].
7. Terehov GV, Chuhraev MV, Dmitrenko IP, vinahidnyky; Terehov GV, Chuhraev MV, Dmitrenko IP, patentovlasnyky. Sposib omolodzhennya shkiri oblichchja ta shii. Patent Ukrainy No 124969. 2018 Kvi 25. [In Ukrainian].

Надійшла 08.09.2019