

УДК: 616-001.4:611-018.54.001.42

ПРИМЕНЕНИЕ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М. В. Аралова, Л. Н. Антакова, Ю. Н. Алимкина, А. А. Глухов, В. С. Бордачева

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко

Поступила в редакцию 17.12.2018 г.

Аннотация. С целью изучения применения обогащенной тромбоцитами донорской и аутоплазмы проведено экспериментальное исследование хронических ран у 63 крыс породы Вистар. Моделирование раны производили в межлопаточной области. Через 1 сутки в моделированную рану животным 1-й и 2-й опытных групп была введена обогащенная тромбоцитами плазма, которую получали путём забора крови из хвостовой вены с последующим центрифугированием. После забора супернатанта осадок представлял собой обогащённую тромбоцитами плазму, которую вводили в рану. Сравнительный анализ клинических и планиметрических изменений в ранах произведен на 1-е, 3-и и 5-е сутки. К исходу первых суток после введения плазмы у животных всех групп раны покрыты сгустком крови и экссудата. На 3-и сутки отека и гиперемии не наблюдалось ни в одной группе. Заживление проходило под тонкой пленкой струпа. На 5-е сутки у всех животных раны заживали вторичным натяжением, отека и гиперемии не отмечено, однако площадь ран резко отличалась, так в контрольной группе она была в 2 раза больше по сравнению со 2-й основной группой. Максимальное сокращение площади ран отмечено в 1-й основной группе. При гистологическом исследовании биоптата ран у животных 1-й и 2-й основной групп к пятым суткам на всей поверхности раны виден эпителиальный пласт, образование структурированной соединительной ткани с формированием коллагеновых волокон в дерме и очаговая скудная периваскулярная инфильтрация. В микропрепаратах контрольной группы отмечена краевая эпителизация, дно раны представлено рыхлой волокнистой соединительной тканью, в толще которой видна умеренно густая инфильтрация из мононуклеарных лейкоцитов, что может свидетельствовать об относительно выраженных воспалительных изменениях в полости раны. Полученные данные экспериментальных исследований указывают на достаточно высокую эффективность применения обогащенной тромбоцитами плазмы для стимуляции регенерации в хронических ранах. Использование аутоплазмы эффективнее на 11,5% по сравнению с применением донорской плазмы, а применение донорской плазмы на 25% ускоряет регенерацию хронических ран по сравнению с отсутствием какого-либо воздействия. Таким образом, ускорение регенерации в результате применения обогащенной тромбоцитами донорской и аутоплазмы по сравнению с контрольной группой дает основание использовать обогащенную тромбоцитами донорскую плазму, предназначенную для трансфузии, как альтернативу обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

Ключевые слова: хронические раны, аутоплазма, донорская плазма, обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП), крысы.

Использование компонентов крови или препаратов факторов роста, в том числе обогащенной тромбоцитами плазмы, для стимуляции пролиферативной и синтетической активности резидентных клеточных популяций в различных областях медицины - биотехнология, набирающая популярность в косметологии, стоматологии, травматологии, ортопедии, спортивной медицине и

хирургии. На фоне непрерывного роста заболеваемости сахарным диабетом, хронической артериальной недостаточностью нижних конечностей, хронической венозной недостаточностью, роста общего травматизма возрастает количество лиц с длительно не заживающими ранами, их число достигает 1.5% всего населения Земли, составляя до 10% пациентов хирургических стационаров [1, 2]. Социальная и медицинская значимость проблемы диктует необходимость развития регенераторной медицины и разработки новых методов

© Аралова М. В., Антакова Л. Н., Алимкина Ю. Н., Глухов А. А., Бордачева В. С., 2019

воздействия на раны [3, 4, 5]. Использование обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в различных областях медицины - стремительно набирающая популярность биотехнология. Применение для этих же целей донорских тромбоцитов, заготовленных в специализированных подразделениях, обеспечивает максимальное выделение тромбоцитов (порядка 1×10^{11} клеток от одного донора), то есть нужное количество элементов высокого качества, безопасность для пациента с точки зрения инфекций, возможность получать «мультидонорский» пул тромбоцитов, который содержит не более 25% нежизнеспособных тромбоцитов. При этом обогащенную тромбоцитами донорскую плазму удобнее использовать в амбулаторно-поликлинических условиях, где имеет место значительный поток пациентов, ограничены время, объем и виды хирургической помощи.

Цель: изучение и сравнительная оценка клинических и планиметрических изменений в хронических ранах при применении обогащенной тромбоцитами донорской и аутоплазмы.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследование проведено на 63 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 10 месяцев и массой 230 ± 20 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария в отдельных клетках. Животные разделены на 3 группы (по 21 самцу в каждой): контрольную и 2 опытные.

В 1-ю опытную группу вошли животные с хроническими ранами, в которых стимулировали процессы регенерации посредством введения в рану обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

2-ю опытную группу составили животные с хроническими ранами, которые для активации регенерации обкалывали обогащенной тромбоцитами донорской плазмой.

В контрольную группу вошли животные, хронические раны у которых не подвергались никакому воздействию.

Моделирование хронической раны производили по методике Зинатуллина Р. М., Гизатуллина Т. Р., патент № 2510083. Для этого под наркозом (Севофлюран 5 мг/ 100г) в асептических условиях у фиксированных животных на предварительно выбритом от шерсти участке иссекали кожу до поверхностной фасции в виде круга [6]. Диаметр раны составлял 1.2 см, площадь - 1.13 см^2 . Предварительно произведен расчет площади поверхности тела крысы с учетом массы по формуле М. Lee (1929): $S = 12.4 \cdot M^{0.66}$, где S – площадь поверхности тела, а M – масса живот-

ного. У крыс массой 230 ± 20 г, площадь поверхности тела составила: $449\text{--}499 \text{ см}^2$. Моделированная в ходе эксперимента рана площадью 1.13 см^2 составляет 0.25–0.4 % от площади поверхности тела, что является допустимым.

Локализация в межлопаточной области выбрана исходя из невозможности самотравмирования в процессе жизнедеятельности животного [7, 8]. Далее на края раны накладывали простой непрерывный обвивной шов с подшиванием кожных краев раны к фасции с использованием моноволоконного синтетического нерассасывающегося стерильного хирургического шовного материала. Расстояние между витками нити – 3 мм (экспериментально подобранный максимальный шаг, при котором достигается необходимая ишемизация краев раны). После первого вкола конец нити не завязывали, то есть не фиксировали к коже. После наложения шва, нить натягивали за оба конца до побледнения подшитых слоев тканей, концы нити связывали между собой, удерживая натяжение и бледность тканей. На поверхности дна раны надсекали поверхностную фасцию перпендикулярными разрезами с образованием ячеек размерами 5×5 мм. Перед забором материала для морфологического исследования нить удаляли путем срезания узелка и последующим вытягиванием лигатуры за любой конец. При данном способе наложения шва и использовании моноволоконного синтетического нерассасывающегося стерильного хирургического шовного материала с расстоянием между витками нити 3 мм нить легко и полностью удаляется. Через 1 сутки в моделированную рану животным 1-й и 2-й опытных групп была введена обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП) согласно условиям эксперимента.

Методика получения ОТП включала в себя забор 1.5–1.8 мл (7.5% от объема циркулирующей крови (ОЦК)) крови из хвостовой вены крысы после предварительного согревания хвоста посредством погружения в теплую воду и надежной фиксации животного. На хвосте на расстоянии 2 см от конца выполняли разрез кожи по спирали вдоль оси хвоста, при этом кровь самотеком (что важно для профилактики разрушения тромбоцитов) собирали в пробирку, в которую для предупреждения свертывания крови добавляли 0.2 мл консерванта (цитро-глюкофосфат) [9]. На рану накладывали давящую повязку с 3% раствором перекиси водорода на 5 мин с целью гемостаза. После остановки кровотечения хвостовую рану обрабатывали раствором бриллиантового зеленого.

На лабораторной медицинской центрифуге LMC-3000 (Biosan, Латвия) отобранную кровь центрифугировали в пробирке в течение 10 минут на скорости 1200 об/мин. Далее образовавшуюся плазму забирали в пустую пробирку и центрифугировали на 2700 об/мин в течение 10 мин. После забора супернатанта осадок представлял собой ОТП [10], количество тромбоцитов подтверждалось с помощью гематологического анализатора Swelab Alfa Basic (Boule Medical AB, Швеция) и составляло порядка 10^6 в 1 микролитре, примесь эритроцитов не превышала 10^4 .

Перед применением ОТП в ней инициировали процесс коагуляции 10%-ым раствором хлорида кальция (CaCl_2) в присутствии воздуха. Воздух необходим для перемешивания в шприце ОТП и прокаогулянта. Шприц прокачивали 6–10 сек до начала свертывания (активации) [11–13]. После активации содержимое шприца инъекцией вводили в дно и края раны из расчета 0.1 мл полученной и активированной ОТП на 1 cm^2 раневой площади при глубине вкола 0.3 см. Как говорилось выше, в 1-й опытной группе животным вводили в рану обогащенную тромбоцитами аутоплазму, во 2-й опытной группе – обогащенную тромбоцитами плазму от другого животного этой же группы. Между забором крови у крыс и введением ОТП в рану проходило около 2 часов.

Объем крови, взятой у животных, являлся допустимым и безопасным, так как не превышал 10% от ОЦК, равного в среднем 13.75–17.50 мл [14]. Исходя из рекомендаций по безопасному забору крови у мышей и крыс (утверждены Национальным Институтом Здоровья США), для животных допустим забор 10% объема циркулирующей крови каждые 2–4 недели, 7.5% - каждые 7 дней, 1% - каждые 24 часа.

Сравнительный анализ применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и аутоплазмы проводили с помощью следующих методов: клинических (общее состояние животных, характер воспалительной реакции, состояния стенок и дна раны, сроки появления грануляций, характер грануляционной ткани, сроки и активность эпителизации), планиметрических, гистологического. Клинические и планиметрические данные течения раневого процесса фиксировали с первого дня воздействия ежедневно [15–19]. Для измерения площади ран и скорости ее уменьшения использовалось мобильное приложение +WoundDesk, основанное на использовании фотокамеры смарт-

фона с операционной системой Android. При выполнении снимка использована индикаторная шкала «+WD» (предоставляется создателями приложения), с помощью которой распознаются контуры исследуемой раны [20]. Забор тканей для гистологического метода исследования осуществляли на 1-е, 3-е, 5-е сутки после введения ОТП у 7 животных из каждой группы. После фиксации в нейтральном формалине образцы тканей подвергались стандартной процедуре пробоподготовки с изготовлением парафиновых срезов толщиной 5 мкм, микропрепараты окрашивались гематоксилин-эозином.

Исследования на белых крысах проводились в строгом соответствии с Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986), приказом Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики», приказом Минздрава СССР №755 от 12 августа 1977 года «О мерах по дальнейшему совершенствованию форм работы с использованием лабораторных животных».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

К исходу первых суток после введения ОТП слабовыраженный отек перифокальных тканей отмечен у 6 (28.6%) животных 1-й опытной группы, в 4 (19%) случаях 2-й опытной группы. В контрольной группе у 2 (9.5%) животных отмечен отек тканей с небольшим диффузным кровотоком. У животных всех групп раны покрыты сгустками крови и экссудата.

Морфологическая картина во всех препаратах одинакова: на поверхности широкий пласт фибрина с примесью частично гемолизированных эритроцитов и малого количества клеток лейкоцитарного ряда. Далее следует относительно широкий пласт тканевого детрита с густой лейкоцитарной инфильтрацией. Дерма с густой лейкоцитарной инфильтрацией, формирующей широкий демаркационный вал, и мелкоочаговыми кровоизлияниями. Среди клеток, указывающих на воспаление, преобладают полиморфноядерные лейкоциты, что свидетельствует об острой фазе воспаления после нанесения травмы животным (рис. 1).

На 3-и сутки после введения ОТП отека и гиперемии не наблюдалось ни в одной группе. Заживление проходило под тонкой пленкой струпа. Средняя площадь ран в 1-й опытной группе – 0.79 cm^2 , во 2-й опытной группе – 0.63 cm^2 , в контрольной – 0.94 cm^2 .

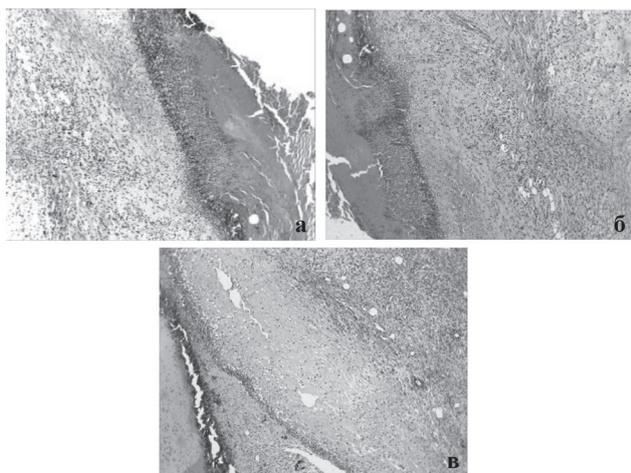


Рис. 1. Морфологическая картина на 1-е сутки. Микропрепарат. Увеличение 50. Окраска гематоксилин-эозином. А – 1-я опытная группа, Б – 2-я опытная группа, В – контрольная группа.

При морфологическом исследовании материала, взятого на 3-и сутки, в 1-й опытной группе (рис. 2, А) видны признаки «наползания» эпителиального пласта на соединительнотканную подложку, состоящую из большого числа рыхлых и плотных коротких соединительнотканых волокон, расположенных вокруг полнокровных тонкостенных капилляров. Иными словами, имеет место разрастание грануляционной ткани и начало эпителизации. В воспалительном инфильтрате преобладают клетки мононуклеарных лейкоцитов, что может говорить о стихании воспалительного процесса как в самой ране, так и в прилежащих к ней тканях. Во 2-й опытной группе (рис. 2, Б) формирующийся эпителиальный пласт более широкий. Сама соединительнотканная подложка состоит из большого количества плотных коллагеновых волокон, сосудистые полости между описанными выше волокнами выглядят вытянутыми, часть из них запустевшие. Под формирующимся эпителиальным пластом видны мелкоочаговые кровоизлияния. Воспалительный инфильтрат относительно скудный и представлен преимущественно лимфоцитами и гистиоцитами, что можно расценить как практически полностью купированный воспалительный процесс как в самой ране, так и в прилежащих к ней тканях. В микрофотографиях контрольной группы на 3-и сутки (рис. 2, В) видны разрастания рыхлой волокнистой соединительной ткани, в толще которой располагается большое количество относительно полнокровных тонкостенных сосудов капиллярного типа - это молодая грануляционная ткань. Кроме того, в толще этой грануляционной ткани

видны мелкоочаговые кровоизлияния и относительно большое количество лейкоцитов, среди которых также встречаются нейтрофилы – признаки выраженного и активного воспалительного процесса в самой ране.

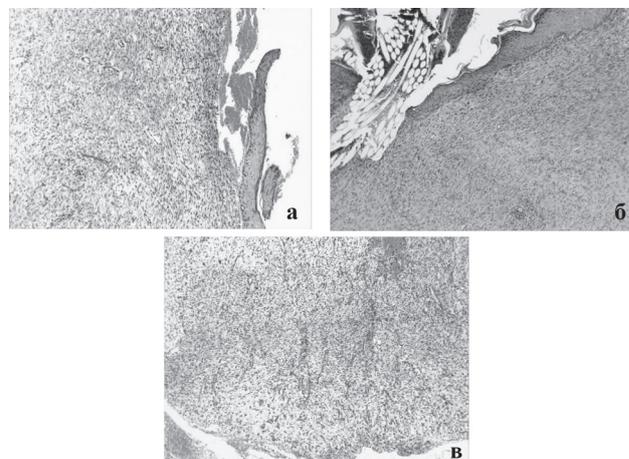


Рис. 2. Морфологическая картина на 3-и сутки. Микропрепарат. Увеличение 50. Окраска гематоксилин-эозином. А – 1-я опытная группа, Б – 2-я опытная группа, В – контрольная группа.

На 5-е сутки у всех животных раны заживали вторичным натяжением, отека и гиперемии не отмечено. Планиметрическое исследование: средняя площадь ран в 1-й опытной группе – 0.28 см², во 2-й опытной группе – 0.38 см², в контрольной – 0.64 см².

В микропрепаратах, сделанных из материала, взятого на 5-е сутки в 1-й опытной группе (рис. 3, А) виден относительно широкий эпителиальный пласт с хорошо различимыми слоями, также можно наблюдать процесс равномерного формирования сосочков на всём протяжении пласта эпидермиса. Подлежащий слой плотной волокнистой соединительной ткани с большим количеством относительно длинных и параллельно расположенных коллагеновых волокон. Капилляры полнокровные, вокруг них очаговая лейкоцитарная инфильтрация из мононуклеаров. Также видны мелкие островки зрелой жировой ткани обычного гистологического строения. На микропрепаратах 2-й опытной группы (рис. 3, Б) эпителиальный пласт также покрывает всю поверхность раны, однако он тонкий и в нем различимы лишь три слоя. В исследуемых микропрепаратах видны единичны дериваты в виде формирующихся волосяных фолликулов. Дерма представлена большей частью рыхлой волокнистой соединительной тканью с участками разрастания коллагеновых волокон. Полнокровные сосуды капиллярного типа большого диаметра видны лишь в глубоких слоях дермы, здесь же видна скудная

периваскулярная инфильтрация из мононуклеарных лейкоцитов. В микропрепаратах контрольной группы (рис. 3, В) видны признаки формирования эпителиального пласта на рыхлой волокнистой соединительной ткани с участками плотных коллагеновых волокон, между которыми располагаются полнокровные капилляры. В толще соединительной ткани видна относительно густая инфильтрация из мононуклеарных лейкоцитов, что может свидетельствовать об относительно выраженных воспалительных изменениях в полости раны.

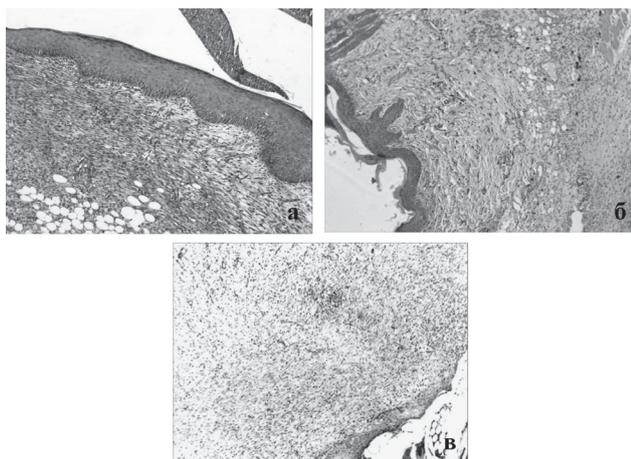


Рис. 3. Морфологическая картина на 3-е сутки. Микропрепарат. Увеличение 50. Окраска гематоксилин-эозином. А – 1-я опытная группа, Б – 2-я опытная группа, В – контрольная группа.

По результатам исследования заживления ран животных рассчитаны средние значения площади ран S в трех группах через 3 и 5 суток, а также, стандартная ошибка среднего (табл. 1).

Количество животных в группах достаточное, чтобы установить, что различия в показателе S

между группами являются статистически значимыми как на 3-и, так и на 5-е сутки (табл. 2). Поэтому более быстрое заживление ран в первой и второй опытных группах по сравнению с контрольной является статистически достоверно установленным.

При использовании обогащенной тромбоцитами донорской плазмы (2-я опытная группа) через трое суток площадь раны была меньше на 32.6 %, через пять суток - на 40 %, чем в контрольной группе. В 1-й опытной группе (использована обогащенная тромбоцитами аутоплазма) через 3-е суток площадь раны была меньше на 15.6 % по сравнению с контрольной группой, но на 24.8 % больше, чем во 2-й опытной группе. Однако через 5 суток площадь ран в среднем в 1-й опытной группе на 56 % меньше, чем в контрольной группе и на 26.8 % меньше, чем во 2-й опытной группе (рис. 4).

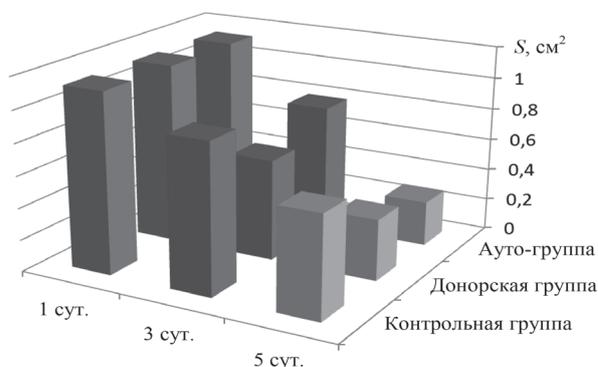


Рис. 4. Изменение площади раны в исследуемых группах с течением времени.

Возможной причиной разницы эффектов применения обогащенных тромбоцитами донорской и аутоплазмы является иммуномодулирующий эффект лейкоцитов, которые в большей

Таблица 1

Площадь ран животных исследуемых групп в контрольные периоды времени от начала наблюдения

Сутки от начала наблюдения	Группы см ²		
	Первая основная группа	Вторая основная группа	Контрольная группа
через 3 суток	0.79 ± 0.03	0.63 ± 0.02	0.94 ± 0.02
через 5 суток	0.28 ± 0.03	0.384 ± 0.03	0.64 ± 0.03

Таблица 2

Различия площади ран в исследуемых группах через 3 и 5 суток от начала наблюдения

Сравниваемые показатели		Величина различия ΔS , см ²	Улучшение по сравнению с контрольной группой $(S_i - S_k)/S_k$, %
S_{A3}	S_{D3}	-0.16	-
S_{A3}	S_{K3}	0.15	15.9 %
S_{D3}	S_{K3}	0.31	32.6 %
S_{A5}	S_{D5}	0.10	-
S_{A5}	S_{K5}	0.36	56.0 %
S_{D5}	S_{K5}	0.26	40.0 %

Примечание 1: буквы в индексах А, Д, К соответствуют группам: А – 1-я основная, где использовалась обогащенная тромбоцитами аутоплазма, Д – 2-я основная, где применяли обогащенную тромбоцитами донорскую плазму, К – контрольная группа; числа 3 и 5 в индексах означают показатели через 3 и 5 суток.

или меньшей степени присутствуют среди выделенных тромбоцитов. При этом сами тромбоциты являются источником большинства воспалительных медиаторов. Однако нельзя исключить, что провоспалительные факторы, высвобожденные лейкоцитами, потенцируют активацию и высвобождение провоспалительных факторов тромбоцитов. Механизмы аллоиммунизации не изучены и, вероятно, многофакторны. Доказано, что остаточные В-лимфоциты играют решающую роль среди антигенпрезентирующих клеток [21, 22].

Таким образом, применение и обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, и донорской плазмы позволяет статистически достоверно уменьшить площадь раны по сравнению с контрольной группой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные экспериментальных исследований указывают на достаточно высокую эффективность применения обогащенной тромбоцитами плазмы для стимуляции регенерации в хронических ранах. Надо отметить, что использование аутоплазмы эффективнее в среднем на 11.5% по сравнению с применением донорской плазмы. Однако результаты лечения во 2-й опытной группе, где применяли донорскую плазму, лучше по сравнению с контрольной группой на 25%. Таким образом, для стимуляции регенерации в длительно не заживающих ранах, при невозможности получить обогащенную тромбоцитами аутоплазму, обогащенную тромбоцитами донорскую плазму можно использовать как ее альтернативу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аралова М.В., Остроушко А.П. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2015. Т. 8. № 2. С. 248-251.
2. Vuylsteke ME, Thomis S, Guillaume G, Modliszewski ML, Weides N, Staelens I. // European Journal of Vascular and Endovascular Surgery. 2015. Vol. 49(4), pp. 432-439.
3. Круглова Л.С., Панина А.Н., Стрелкович Т.И. // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2014. Т. 17(1). С. 21-25.
4. Aralova M.V., Korotkikh N.N., Alimkina Y.N., Petrova T.N., Bordachyova V.S. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. Vol. 9 (3), pp. 136-143.
5. Sopata M., Glowacka A., Luczak J. // Advances in Dermatology and Allergology. 2012. Vol. 29:1, pp. 40-46.
6. Зинатуллин Р. М., Гизатуллин Т. Р. Патент РФ, № 2510083, 2013.
7. Сендрякова В.Н., Копаева И.К., Трохов, К.А., Букатин М.В. // Успехи современного естествознания. 2013. Т. 3(8). С. 38.
8. Харитонов Д.Ю., Коваленко А.Ю. // Научно-медицинский вестник центрального Черноземья. 2017. Т. 69. С. 57-60.
9. Толстов Д.А., Богдан В.Г. // Военная медицина. 2012. № 3 (24). С. 141-144.
10. Гайдуков В.Е. Дисс. канд. мед. наук. Воронеж, 2009, 22 с.
11. Marx RE. // J. Oral Maxillofac Surg. 2004. Vol. 62, pp. 489-496.
12. Крайник И.В., Ремизов А.С., Сонькин И.Н., Атабеков А.И., Маркин М.А., Ильин А.В. // Вестник неотложной и восстановительной медицины. 2014. Т. 15. № 1. С. 83.
13. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.А. и др. Под ред. В.В. Меньшикова. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. Москва, Медицина, 1987, 368 с.
14. Зыблев С.Л., Дундаров З.А., Зыблева С.В. // Проблемы здоровья и экологии. 2017. №1 (51). С. 4-6.
15. Глухов А.А., Алексеева Н.Т., Остроушко А.П. // Новости хирургии. 2013. Т. 21. № 1. С. 15-22.
16. Коротких Н.Н., Аралова М.В., Остроушко А.П., Шипилова В.В. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2017. Т. 10. № 2. С. 111-115.
17. Morimoto N., Saso Y., Tomihata K., Taira T., Takahasi Y., Ohta M., Suzuki S. // Journal of Surgical Research. 2005. Vol. 125, pp. 56-57.
18. Gethin G. // British Journal of Community Nursing. 2012, pp. 17-22.
19. Kirsner RS, Marston WA, Snyder RJ, Lee TD, Cargill DI, Slade HB. // Lancet. 2012. Vol. 380(9846), pp. 977-985.
20. Колосова Н.И., Нузова О.Б. Денисов Е.Н., Студеникин А.В., Удалов В.В. // Альманах молодой науки. 2016. № 3. С. 16-17.
21. Зарубин М.В., Губанова М.Н., Гапонова Т.В., Парамонов И.В., Мадзаев С.Р., Хальзов К.В., Моор Ю.В., Жибург Е.Б. // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2016. Т. 11. № 3. С. 118-125.
22. Pavenski K., Freedman J., Semple J.W. // Tissue Antigens 2012. Vol. 79, pp. 237-245.

Аралова М. В., Антакова Л. Н., Алимкина Ю. Н., Глухов А. А., Бордачева В. С.

ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России

Глухов А. А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии

*Аралова М. В., к.м.н., Старший научный сотрудник НИИ ЭБМ

E-mail Mashaaralova@mail.ru

Антакова Л. Н., к.б.н., Старший научный сотрудник НИИ ЭБМ

Алимкина Ю. Н., ассистент кафедры госпитальной хирургии

E-mail amica3@mail.ru

Бордачева В. С., ординатор, кафедра госпитальной хирургии

Voronezh State Medical University of N.N. Burdenko

Glukhov A. A., M.D., DSci., Full Professor, Head of the Department of General Surgery

*Aralova M. V., M.D., Senior Researcher

E-mail Mashaaralova@mail.ru

Antakova L. N., PhD., Senior Researcher

Alimkina Y. N., Assistant Professor, Department of Hospital Surgery

E-mail amica3@mail.ru

Bordacheva V. S. Resident of the Department of Hospital Surgery

APPLICATION OF PLATELET-RICH PLASMA IN EXPERIMENT

M. V. Aralova, L. N. Antakova, Yu. N. Alimkina, A. A. Glukhov, V. S. Bordacheva

Voronezh State Medical University of N.N. Burdenko

Abstract. An experimental study of chronic wounds was carried out in 63 Wistar rats in order to study the use of platelet-rich donor and autoplasm. Modeling wounds produced in the interscapular region. After 1 day, platelet-enriched plasma was introduced into the simulated wound in animals of the 1st and 2nd experimental groups, which was obtained by taking blood from the tail vein followed by centrifugation. After collecting the supernatant, the pellet was a platelet rich plasma. A comparative analysis of clinical and planimetric changes in wounds was made on the 1st, 3rd and 5th day. By the end of the first day after plasma administration in animals of all wound groups covered with blood clots and exudate. On the 3rd day of edema and hyperemia was not observed in any group. The healing took place under a thin film of a scab. On the 5th day in all animals, the wounds healed by secondary intention, edema and hyperemia were not observed, however, the area of wounds differed sharply, as in the control group it was 2 times larger compared to the 2 main group. The maximum reduction in the area of wounds was noted in 1 main group. Histological examination of wound biopsy in animals of the 1st and 2nd main groups on the fifth day shows the epithelial layer on the entire wound surface, the formation of structured connective tissue with the formation of collagen fibers in the dermis and focal scanty vascular infiltration. In the microscopic preparations of the control group, marginal epithelization was noted, the bottom of the wound was represented by loose fibrous connective tissue, in the depth of which moderately dense infiltration from mononuclear leukocytes was visible, which may indicate relatively pronounced inflammatory changes in the wound cavity. The data obtained indicate a high efficiency of application of platelet-rich plasma to stimulate regeneration in chronic wounds. The use of autoplasm is more effective by 11.5% compared with the use of donor plasma, and the use of donor plasma by 25% accelerates the regeneration of chronic wounds compared with the absence of any effect. Thus, the acceleration of regeneration as a result of the use of both donor and autoplasm enriched with platelets, compared with the control group, gives grounds to use donor plasma enriched for platelet transfusion as an alternative to autoplasm enriched with platelets.

Keywords: chronic wounds, autoplasm, donor plasma, platelet-rich plasma (PRP), rats.

REFERENCES

1. Aralova M.V., Ostroushko A.P. J. of Experimental and Clinical Surgery, 2015, Vol. 8, No. 2, pp. 248-251.
2. Vuylsteke ME, Thomis S, Guillaume G, Modliszewski ML, Weides N, Staelens I., European Journal of Vascular and Endovascular Surgery, 2015, Vol. 49, No 4, pp. 432-439. DOI: 10.1016/j.ejvs.2014.12.031.
3. Kruglova L.S., Panina A.N., Strelkovich T.I. Russian Journal of Skin and Sexually Transmitted Diseases, 2014, Vol. 17, No. 1, pp. 21-25.
4. Aralova M.V., Korotkikh N.N., Alimkina Y.N., Petrova T.N., Bordachyova V.S., Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 2018, Vol. 9, No. 3, pp. 136-143.
5. Sopata M., Glowacka A., Luczak J., Advances in Dermatology and Allergology, 2012, Vol. 29, No. 1, pp. 40-46.
6. Zinatullina R. M., Gizatullina T. R. Patent RF, No. 2510083, 2013.
7. Sendryakova V.N., Kopaeva I.K., Trokhov, K.A., Bukatin M.V. Successes of modern science, 2013, Vol. 3, No. 8, p. 38.
8. Kharitonov D.Yu., Kovalenko A.Yu. Scientific Medical Herald of the Central Chernozem Region, 2017, Vol. 69, pp. 57-60.
9. Tolstov D.A., Bogdan V.G. Military medicine, 2012, Vol. 3, No. 24, pp. 141-144.
10. Gaidukov V.E. Diss. kand. med. nauk. Voronezh, 2009, 22 p.
11. Marx RE., J. Oral Maxillofac Surg, 2004, Vol. 62, pp. 489-496.
12. Krainik I.V., Remizov A.S., Son'kin I.N., Atabekov A.I., Markin M.A., Il'in A.V. Herald of emergency and restorative medicine, 2014, Vol. 15, No.1, p. 83.
13. Men'shikov V.V., Delektorskaya L.N., Zolotnitskaya R.A. i dr. Pod red. V.V. Men'shikova. Laboratornye metody issledovaniya v klinike: Spravochnik. Moscow, Medicine Publ., 1987, 368 p.
14. Zyblev S.L., Dundarov Z.A., Zybleva S.V. Health and ecology problems, 2017, Vol. 1, No. 51, pp. 4-6.
15. Glukhov A.A., Alekseeva N.T., Ostroushko A.P. Surgery News, 2013, Vol. 21, No. 1, pp. 15-22.
16. Korotkikh N.N., Aralova M.V., Ostroushko A.P., Shipilova V.V. Journal of Experimental and Clinical Surgery, 2017, Vol. 10, No. 2, pp. 111-115.
17. Morimoto N., Saso Y., Tomihata K., Taira T., Takahasi Y., Ohta M., Suzuki S., Journal of Surgical Research, 2005, Vol. 125, pp. 56-57.
18. Gethin G., British Journal of Community Nursing, 2012, pp. 17-22.
19. Kirsner RS, Marston WA, Snyder RJ, Lee TD, Cargill DI, Slade HB., Lancet, 2012, Vol. 380, No. 9846, pp. 977-985. DOI: 0.1016/S0140-6736(12)60644-8.
20. Kolosova N.I., Nuzova O.B. Denisov E.N., Studenikin A.V., Udalov V.V. The almanac of young science, 2016, No. 3, pp. 16-17.
21. Zarubin M.V., Gubanov M.N., Gaponova T.V., Paramonov I.V., Madzayev S.R., Khalzov K.V., Moor Yu.V., Zhiburg E.B. // Bulletin of the National Medical and Surgical Center. N.I. Pirogov, 2016, Vol. 11, No. 3, pp. 118-125.
22. Pavenski K., Freedman J., Semple J.W. Tissue Antigens, 2012, No. 79, pp. 237-245.