

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИПОГРАФТА С ПЛАЗМОЙ, ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ, ПОСЛЕ ПОДКОЖНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ *IN VIVO*

И.Р. Дзампаева¹, И.В. Гайворонский², И.В. Крайник³, А.Ю. Дробышев¹,
И.Я. Бозо^{1,4,5}, А.В. Глушко¹, Р.В. Деев⁴

¹Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

³Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

⁴Институт стволовых клеток человека, Москва

⁵Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна, Москва, Россия

Histological features of the lipograft with platelet-rich plasma after subcutaneous transplantation *in vivo*

I.R. Dzampaeva¹, I.V. Gaivoronskiy², I.V. Krainik³, A.Y. Drobyshev¹, I.Y. Bozo^{1,4,5},
A.V. Glushko¹, R.V. Deev⁴

¹A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

²S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia

³National Medical Surgical Center, Moscow, Russia

⁴Human Stem Cells Institute, Moscow, Russia

⁵A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

Аутооттрансплантация жировой ткани является одним из наиболее распространенных методов коррекции объемов и формы мягких тканей. Однако эффект липофилинга является краткосрочным в связи с низкой выживаемостью жирового трансплантата.

Данное исследование было направлено на оценку влияния плазмы, обогащенной тромбоцитами (platelet-rich plasma, PRP), на динамику инволютивных изменений липографта в экспериментальной модели с подкожным введением жировой ткани в ушную раковину кролика.

Каждому животному (n = 9) выполнялась подкожная аутооттрансплантация жировой ткани: в левую ушную раковину – без PRP, в правую – смешанной с PRP. На сроках 1, 2, 4, 8 и 36 нед. выполняли гистологический анализ полученных материалов, оценивая количество жировых элементов, процессы фиброза, выраженность макрофагально-гистиоцитарной реакции (выявление CD163⁺-клеток).

Было установлено, что на ранних сроках наблюдения – вплоть до 4 нед. – признаки фиброза (толщина соединительнотканной капсулы, междольковых и межадипоцитарных септ) менее выражены в случае применения PRP. Однако в дальнейшем гистологическая характеристика выравнивалась в обеих группах.

Таким образом, PRP может оказать положительное влияние на выживаемость жирового аутооттрансплантата, однако требуются дополнительные исследования для выбора оптимального протокола обработки липографта PRP и дальнейший анализ причин, механизмов и признаков инволюции трансплантированной жировой ткани.

Ключевые слова: плазма, обогащенная тромбоцитами, жировая ткань, трансплантация, липографтинг.

Введение

Эффективное реконструктивно-восстановительное лечение пациентов с дефектами и деформациями мягких тканей лица является важной задачей челюстно-лицевой хирургии, решение которой требует применения материалов, способных восполнить утраченные объемы мягких тканей [1–3].

Autologous adipose tissue transplantation is one of the most common methods of soft tissue volume and shape correction. However, the effect of fat grafting is short due to the low survival rate of a fat graft.

This study was designed to evaluate the influence of the platelet-rich plasma (PRP) on the dynamics of involutive changes of the fat graft in an experimental model with subcutaneous injection in the rabbit ear shell.

Each animal (n = 9) underwent subcutaneous autologous fat grafting: in the left ear – without PRP, in the right one – mixed with PRP. We performed the histological analysis of the materials estimating the number of fat elements, fibrosis processes, and severity of the macrophage-histiocytic reaction (identification of CD163⁺-cells) in 1, 2, 4, 8, 36 weeks after surgery.

We found that in the early stages of observation, up to 4 weeks, the signs of fibrosis (the thickness of the connective tissue capsule, interlobular and interadipocyte fibrous septums) were less pronounced in the case of PRP. However, further histologic characteristic became similar in the both groups.

Thus, PRP can have a positive impact on the autologous fat graft survival, but more research is needed to select the optimal PRP processing protocol for autologous fat graft and further analysis of the causes, mechanisms and symptoms of the transplanted fat tissue involution.

Keywords: platelet-rich plasma, adipose tissue, transplantation, fat grafting.

За многолетнюю историю развития методов оперативного лечения при данных показаниях было предложено значительное количество различных материалов, но в клинической практике закрепились только безопасные, биосовместимые и длительно сохраняющие объем после имплантации / трансплантации [4].

в течение 8 мин. Две верхние фракции (плазма крови и лейкоцитарно-тромбоцитарный слой) объемом 1 мл помещали в отдельную стерильную емкость и добавляли 3-4 капли 10% раствора хлористого кальция (для активации). Один из двух образцов жировой ткани, полученных от каждого животного, пропитывался 1 мл активированной PRP непосредственно перед введением под кожу правого уха.

Липографтинг

Под местным обезболиванием (Sol. Ultracaini 0,5 мл) в нижней трети каждого уха, по средней линии дорсальной поверхности выполнялся поперечный разрез кожи длиной 10 мм. С помощью зажима создавался подкожный карман – реципиентное ложе для подготовленных липографтов. Жировые трансплантаты вводились через произведенный доступ, послеоперационные раны ушивались узловыми швами SurgiPro 5/0.

Гистологический анализ

От животных, выведенных на сроках 1, 2, 4, 8 и 36 нед., забирали фрагменты ушных раковин с зоной ранее выполненного липографтинга и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Срезы изготавливали по стандартной методике, окрашивали гематоксилином и эозином, а также выполняли иммуногистохимический анализ с антителами к CD163 – маркеру моноцитов/макрофагов.

Статистический анализ

На первом этапе статистического анализа использовались описательные методы: определение средних значений, стандартных ошибок средних значений, верхних и нижних квартилей, межквартильных интервалов. Учитывая непараметрическое распределение количественных признаков, для сравнения групп применяли непараметрический метод – U-критерий Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение

Жировой аутографт без PRP

В ходе исследования было установлено, что уже через 1 нед. жировые аутографты без PRP были окружены соединительнотканной капсулой толщиной до $187,5 \pm 49,65$ мкм (рис. 1А). При этом реактивно измененная рыхлая волокнистая соединительная ткань (РВСТ) капсулы включала в себя элементы организующейся интраоперационной гематомы. Снаружи, непосредственно к капсуле прилежала грануляционная ткань. При этом жировой аутографт претерпевал ряд изменений: обнаруживались несколько деформированные и сплюснутые оптически пустые вакуоли; междольковая соединительная ткань подвергалась гиперплазии, вследствие чего поперечные размеры междольковых перегородок по ширине были сопоставимы с капсулой, окружающей трансплантат.

Необходимо отметить, что происходило увеличение междипоцитарных зон липографта за счет пролиферации клеточных элементов реактивно измененной РВСТ. Данные участки были заполнены активными фибробластами, клетками гемопозитического ряда, включая гранулоциты, а также кровеносными сосудами, что «роднит» данную ткань с грануляционной (рис. 1А).

Преимущественно в структуре формирующейся соединительнотканной капсулы, но также и в составе жирового аутографта обнаруживались клеточные элементы макрофагально-гистиоцитарной реакции (рис. 2). В составе последнего гистиоциты располагались в междипоцитарной РВСТ, вблизи сосудов, что, вероятно, обусловлено их миграцией из кровотока. Однако нельзя исключить, что макрофаги достигали жирового трансплантата, двигаясь в матриксе РВСТ, врастающей со стороны формирующейся капсулы. Это положение отчасти подтверждает тот факт, что в центральных участках липографта количество гистиоцитов было наименьшим.

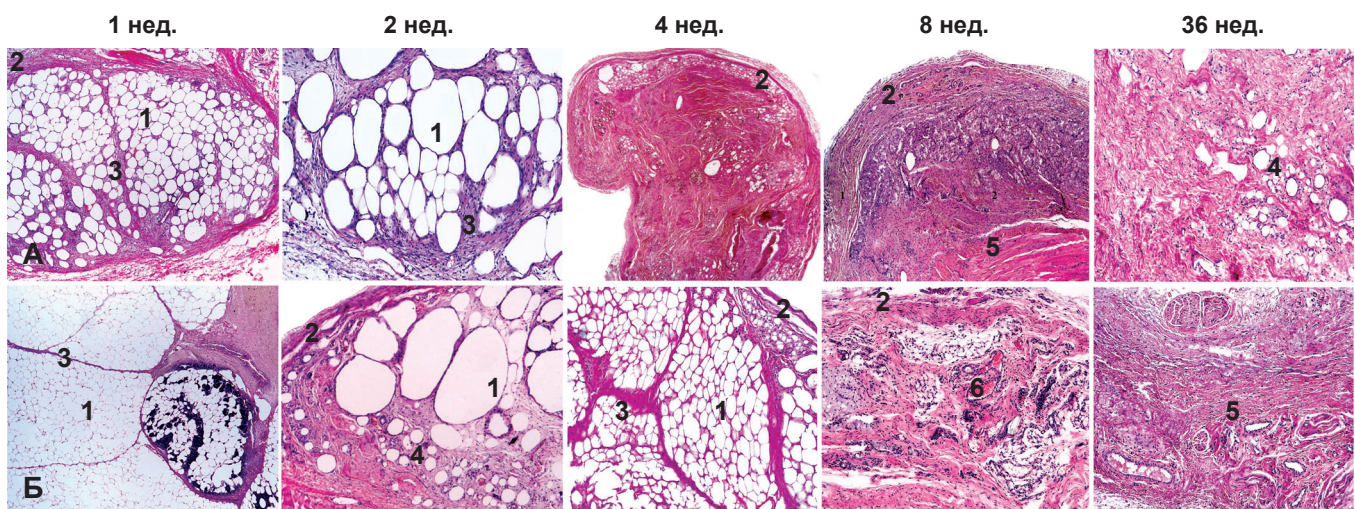


Рис. 1. Липографты без PRP (А) и смешанные с PRP (Б) в различные сроки после подкожной трансплантации в ушную раковину кролика: 1 – жировая ткань; 2 – соединительнотканная капсула; 3 – соединительнотканные междольковые перегородки; 4 – сохранившиеся островки гипотрофичных адипоцитов; 5 – плотная волокнистая соединительная ткань; 6 – кровеносные сосуды.

Окраска: гематоксилин и эозин.

Ув.: А – 1, 36 нед. $\times 100$; А – 2 нед. $\times 200$; А – 4, 8 нед. $\times 40$; Б – 1 нед. $\times 40$; Б – 2 нед. $\times 100$;

Б – 4–36 нед. $\times 200$

Заключение

Динамика тканевых реакций, происходящих со свободным жировым аутографтом, представлена последовательной сменой нескольких этапов: потеря жирового компонента (уменьшение жировых вакуолей, количества адипоцитов) с постепенным формированием отграничивающей соединительнотканной капсулы; пролиферация клеточных элементов реактивно измененной РВСТ с постепенным встраиванием в структуру трансплантата и полным его замещением соединительнотканным рубцом.

Указанные изменения были характерны для обеих групп, однако применение PRP в ранние сроки

наблюдения приводило к формированию соединительнотканной капсулы с меньшей толщиной, а также менее выраженной гиперплазией РВСТ меж-адипоцитарных зон. В результате, вплоть до 4 нед. наблюдения выживаемость жирового трансплантата с PRP была большей, чем без PRP.

Таким образом, PRP может оказать положительное влияние на выживаемость жирового аутографта, особенно в ранние сроки после операции, однако требуются дополнительные исследования для выбора оптимального протокола обработки липографта PRP и дальнейший анализ причин, механизмов и признаков инволюции трансплантированной жировой ткани.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Pasquale P., Gaetano M., Giovanni D.O. et al. Autologous fat grafting in facial volumetric restoration. *J. Craniofac. Surg.* 2015; 26(3): 756-9.
2. Arcuri F., Brucoli M., Baragiotta N. et al. The role of fat grafting in the treatment of posttraumatic maxillofacial deformities. *Craniofac. Trauma Reconstr.* 2013; 6(2): 121-6.
3. Zellner E.G., Pfaff M.J., Steinbacher D.M. Fat grafting in primary cleft lip repair. *Plast. Reconstr. Surg.* 2015; 135(5): 1449-53.
4. Born T.M., Airan L., Motakis D. et al. Soft tissue fillers in aesthetic facial surgery. In: Nahai F. *The art of aesthetic surgery*. 2nd ed. Qual. Med. Publ. 2005; p. 329-350.
5. Шарова А.А., Губанова Е.И., Парсагашвили Е.З. и др. Новая косметология. Инъекционные методы в косметологии. Москва: Косметика и медицина; 2014.
6. Coleman S.R. Structural fat grafts: the ideal filler? *Clin Plast Surg.* 2001; 28: 111-9.
7. Coleman S.R., Ricardo F.M. Fat injection: from filling to regeneration. St. Louis; 2009. 800 p.
8. Neuber G. Über die Wiederanheilung vollständig vom Körper getrennter, die ganze Fettschicht enthaltender Hautstücke. *Zbl f Chirurgie*. 1893; 30: 16.
9. Hollander E. Die kosmetische chirurgie. In Joseph M, ed. *Handbuch der kosmetik*. Leipzig; 1912. p. 5 689-690.
10. Neuhof H. *The Transplantation of Tissues*. New York; 1923.
11. Monfort A., Izeta A. Strategies for Human Adipose Tissue Repair and Regeneration. *J. Cosmetics, Dermatol. Sci. Applic.* 2012; 2: 93-107.
12. Clauser L.C., Tieghi R., Galì M. et al. Structural fat grafting: facial volumetric restoration in complex reconstructive surgery. *J. Craniofac. Surg.* 2011; 22(5): 1695-701.
13. Meier J.D., Glasgold R.A., Glasgold M.J. et al. Autologous fat grafting: long-term evidence of its efficacy in midfacial rejuvenation. *Arch. Facial. Plast. Surg.* 2009; 11(1): 24-8.
14. Gerth D.J., King B., Rabach L. et al. Long-term volumetric retention of autologous fat grafting processed with closed-membrane filtration. *Aesthet. Surg. J.* 2014; 34(7): 985-94.
15. Coleman S.R. *Structural fat grafting*. St. Louis; 2004.
16. Sasaki G.H. The safety and efficacy of cell-assisted fat grafting to traditional fat grafting in the anterior mid-face: an indirect assessment by 3D imaging. *Aesthetic Plast. Surg.* 2015; 39(6): 833-46.
17. Keyhan S.O., Hemmat S., Badri A.A. et al. Use of platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in combination with fat graft: which is more effective during facial liposuction. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2013; 71(3): 610-21.
18. 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(4): 252-8.
19. 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: 619-25.
20. 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: 480-6.
21. Pirres 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(12): 818-22.
22. Nakamura S., Ishihara M., Takikawa M. et al. Platelet-rich plasma (PRP) promotes survival of fat-grafts in rats. *Ann. Plast. Surg.* 2010; 65(1): 101-6.
23. 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: 1030-4.

Поступила: 20.09.2015