

**ШТЫРКОВА**

**Екатерина Васильевна**

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
РЕГЕНЕРАТИВНОГО ГИСТОГЕНЕЗА КОЖИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ  
БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МОНОФИЛАМЕНТНЫХ НИТЕЙ**

1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в частном учреждении образовательной организации высшего образования «Медицинский университет «Реавиз»

**Научный руководитель:** **Масляков Владимир Владимирович**  
доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:** **Слесарева Елена Васильевна**  
доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой морфологии; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ульяновский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

**Воронцова Зоя Афанасьевна**  
доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 24.2.318.01 на базе ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», Российская Федерация, Республика Крым, 295051, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (295051, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7) и на сайте <http://www.cfuv.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

Евгения Юрьевна Зяблицкая

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность исследования**

Регенеративный гистогенез – это неотъемлемое условие существования организмов на всех уровнях организации. Без этого процесса невозможно существование жизни на земле, т.к. все структуры организмов постоянно подвергается повреждениям со стороны внешней или внутренней среды. Даже в контексте медицинских вмешательств, целью которых является восстановление физиологических функций организма, процесс регенеративного гистогенеза является одним из ключевых механизмов, на поддержание и активацию которого направлены различные типы воздействий. Регенеративный гистогенез сопровождает все до одного инвазивные медицинские вмешательства, и от адекватности его протекания напрямую зависит конечный результат таких вмешательств.

Процессы регенеративного гистогенеза являются ключевыми в контексте эстетической медицины, так как большое количество терапевтических манипуляций в данном направлении имеет целью инициацию и стимуляцию регенеративных процессов в покровных тканях [Юцковская Я.А. и др., 2015]. Потому, необходимым как с научной, так и с практической точки зрения представляется изучение особенностей регенеративных процессов, исходя из специфики проведения той или иной манипуляции.

На сегодняшний день высокой популярностью среди врачей и пациентов эстетического профиля пользуется методика субдермальной имплантации гладких монофиламентных нитей из синтетических биodeградируемых материалов – полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты. Считается, что активация таким образом процессов регенеративного гистогенеза способствует улучшению эстетических характеристик кожного лоскута [Alam M., Dover J.S., 2008; Kim H. et al., 2016]. В самом деле, после помещения нити в ткани, вокруг нее будут наблюдаться процессы регенеративного гистогенеза – это клеточная реакция, новообразование волокнистых компонентов соединительной ткани и неоангиогенез. Эффективность и безопасность данной методики обусловлена, в первую очередь, особенностями протекания выше названных процессов вокруг имплантата.

Патологические отклонения в процессах регенеративного гистогенеза могут приводить к избыточному фиброзу тканей, окружающих имплантированную нить и вызвать видимую деформацию покровных тканей в зоне введения. Следует также отметить, что в случае данного вида инвазивных вмешательств, процесс регенеративного гистогенеза тканей протекает в особых условиях, как-то:

- минимальное нарушение целостности эпидермиса – только в месте прокола иглой-проводником;
- глубокое проникновение травмирующего агента в дерму и гиподерму;
- присутствие в ране импланта из биodeградируемого синтетического материала.

В самом деле, при стандартной процедуре имплантации монофиламентных нитей происходит минимальная травматизация эпидермиса, и введение иглы-проводника осуществляется на границе дермы и гиподермы (субдермально), а длина проводника, как и самой нити, составляет несколько сантиметров. При этом на процессы регенеративного гистогенеза будет влиять дополнительный, немаловажный фактор – присутствие в ране импланта из биodeградируемого материала. Соответственно, регенерация будет сопровождаться резорбцией материала самой нити, образованием промежуточных и конечных продуктов биodeградации. Эти продукты не могут не оказывать влияния на протекание регенеративных процессов в окружающих тканях.

Исходя из выше сказанного, мы имеем необходимость детального изучения регенеративного гистогенеза в тканях, окружающих имплантированную нить, для более точного понимания происходящих в них процессов, и, таким образом, более точного прогнозирования результатов процедуры и протекания реабилитационного постпроцедурного периода. Также представляется важным установить возможные отличительные особенности регенеративного процесса в тканях, в зависимости от материала имплантированных нитей. Полученная информация будет полезна для практикующих специалистов эстетической медицины с целью разработки и уточнения имеющихся на сегодняшний день практических рекомендаций к данной методике.

## **Степень разработанности проблемы**

На сегодняшний день активно изучаются особенности тканевой реакции на биодеградируемые импланты из различных материалов и их сплавов [Нестеров Д.В. и др., 2016; Мартынов Г.А., Белялова И.Г., 2017; Могильная Г.М., Фомичева Е.В., 2013; Кедик С.А. и др., 2013]. Детализируется, путем применения специфических методов окрашивания тканей, информация об изменениях, происходящих в каждом из слоев кожного лоскута – эпидермисе, дерме и гиподерме [Оразов М.Р., Сулаева О.Н., Старкова Е.Ю., 2017; S. Kimura et al., 2003; Metz S.A., Chegini N., Masterson B.J., 1990; Vert M., Li M.S., Spenlehauer G., 1992]. Учитывая длительную, более нескольких месяцев, биодеградацию имплантированных нитей в тканях, важным аспектом является изучение протекания процессов регенеративного гистогенеза вокруг имплантированной нити во времени [Molea G. et al., 2000; Moulonguet I., Arnaud E., Plantier F., 2015; Ping Ooi C., Cameron R.E., 2002]. В ряде статей [Прокудин С.В. и др., 2013; Сурова М.В., 2005; Шарова А.А., 2013; Sulamanidze M.A. et al., 2001; Sulamanidze A.M. et al., 2002] установлена безопасность и эффективность методики субдермальной имплантации монофиламентных нитей из биодеградируемых синтетических материалов для применения с целью коррекции некоторых эстетических недостатков кожного лоскута. Также безопасность доказывается длительным использованием полидиоксанона и поли-L-лактида в общей хирургической практике, ортопедии, травматологии и фармакологии [Климашевич А.В., Никольский В.И., 2014; Кулаков А.А., Григорьян А.С., 2014; Легонькова О.А., Асанова Л.Ю., 2017; Cho K.J. et al., 2007; Gillatt D.A. et al., 1987]. В целом, раздел нитевой имплантологии в сфере эстетической медицины сегодня является активно разрабатываемым направлением.

## **Цель исследования**

Изучить закономерности регенеративного гистогенеза покровных тканей после имплантации монофиламентных биодеградируемых нитей на основе полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты.

### **Задачи исследования**

1. Провести морфологический анализ структуры регенеративного гистиона, его выраженность и морфометрическую оценку динамики изменений соотношения основных популяций клеток на 21-й и 90-й день после субдермальной имплантации монофиламентных нитей полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты.

2. Изучить особенности структурной организации волокнистого компонента соединительной ткани на основе морфометрической оценки коллагеновых и эластических волокон в составе регенерата после субдермальной имплантации биodeградируемых нитей полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты.

3. Выполнить иммуногистохимическую оценку ангиогенеза на различных сроках регенеративных процессов после имплантации монофиламентных биodeградируемых нитей *in vivo* по экспрессии (CD31 и Factor VIII – связанный антиген) маркеров эндотелиальных клеток.

4. Выявить различия в выраженности и клеточном составе регенеративного гистиона в тканях вокруг нитей из материала полидиоксанона и нитей из поли-L-молочной кислоты. Сравнить изменения волокнистого компонента и их структуру, а также выраженность стимуляции неоангиогенеза при имплантации нитей из данных материалов между собой.

### **Научная новизна**

Новыми являются данные о гистологических изменениях дермы и гиподермы при субдермальной имплантации гладких монофиламентных нитей из полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты, в динамике – на 21-й и 90-й день после имплантации. Произведен количественный подсчет и идентификация клеток регенеративного гистиона вокруг нитей из материала полидиоксанона и вокруг нитей из полимолочной кислоты, на 21-й и 90-й день эксперимента. На каждом сроке сравнивалась между собой выраженность клеточной реакции вокруг нитей из исследуемых материалов. Выявлены различия в клеточном составе регенеративного гистиона вокруг нитей на всех сроках эксперимента. Выраженность клеточной реакции, оценивавшаяся в количестве клеток регенератив-

ного гистиона в 1 мм<sup>2</sup> ткани, также имела различия на раннем сроке эксперимента (21-й день), однако выравнивалась на 90-й день. Также представлены новые сведения о приросте коллагеновых и эластических волокон вокруг имплантированных нитей, полученные с помощью специфического метода окрашивания по Маллори. Установлен достоверный прирост количества коллагеновых и эластических волокон в тканях вокруг имплантированных нитей на всех этапах эксперимента (21-й и 90-й день), по сравнению с контрольными образцами тканей кожного лоскута. При этом наблюдался более значимый прирост эластических волокон, по сравнению с коллагеновыми. Впервые исследовалось влияние субдермальной имплантации нитей из полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты на неоангиогенез в окружающих тканях. Исследование впервые проведено с применением метода иммуногистохимического окрашивания срезов тканей специфическими маркерами неоангиогенеза CD31 и Factor VIII. Установлен статистически достоверный прирост количества микрососудов вокруг имплантированных нитей в сравнении с препаратами группы контроля. Прирост количества сосудов отмечался в течение всего времени эксперимента, от 21-го к 90-му дню, и был более выражен в группе препаратов, содержащих нити из материала полидиоксанона, по сравнению с препаратами, содержащими нити из поли-L-молочной кислоты.

### **Практическая и теоретическая значимость**

Результаты исследования позволяют расширить и детализировать современные знания о морфологических изменениях в гиподерме и надлежащей дерме кожи при имплантации биodeградируемых монофиламентных нитей из материалов полидиоксанон и поли-L-молочная кислота. Также данная работа призвана внести сравнительную характеристику в указанные морфологические данные, что должно помочь практикующим врачам сделать выбор в пользу того или иного материала как в случае отдельно взятого пациента, так и в общей практике данного направления эстетических процедур.

## **Методология и методы исследования**

Методологической основой диссертационного исследования явился комплексный анализ и системный подход в изучении исследуемой темы. Для изучения морфологических изменений использовались следующие методы:

- Обзор теоретической информации по изучаемой теме.
- Морфологический метод.
- Морфометрическое исследование.
- Иммуногистохимический метод.
- Статистический метод.

## **Положения, выносимые на защиту**

1. Субдермальная имплантация нитей из материала полидиоксанона вызывает умеренную клеточную реакцию в окружающих тканях, при этом в составе клеток регенеративного гистона преобладают макрофаги. Процедура стимулирует неоангиогенез и способствует приросту волокнистого компонента в окружающих тканях, включая зону вокруг нитей, пограничную зону и надлежащую дерму кожи.

2. Имплантация нитей из поли-L-молочной кислоты вызывает слабую клеточную реакцию в тканях, при этом регенеративный гистион имеет преимущественно лимфо-плазмоцитарный характер. В тканях зоны вокруг нитей, пограничной зоны и надлежащей дерме кожи происходит прирост волокнистого компонента соединительной ткани, а также активизируется процесс неоангиогенеза.

3. Отсутствует разница в выраженности клеточной реакции между исследуемыми видами нитей, однако имеются различия в клеточном составе регенеративного гистиона в тканях вокруг нитей из полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты. Отсутствует существенная качественная и количественная разница в приросте соединительнотканых волокон между исследуемыми видами нитей на 21-й и на 90-й день эксперимента. Выраженность процесса неоангиогенеза также одинакова между препаратами, содержащими нити из различных материалов.

### **Соответствие паспорту специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 1.5.22. Клеточная биология, цитология, гистология. Методы и результаты проведенного исследования соответствуют пунктам: 1, 2, 5, 6.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность результатов проведенного исследования достигнута путем корректного подбора объектов экспериментального исследования и формированием адекватного объема выборки подопытных животных. Распределение животных по группам производилось в режиме стратифицированной рандомизации. Объективизация морфометрического анализа достигнута путем использования системы компьютерного анализа микроскопических препаратов. Также достоверность полученных результатов подтверждается использованием корректной статистической обработки с применением прикладного программного обеспечения.

### **Апробация результатов работы**

Результаты работы доложены и обсуждены на IV, V и VI межвузовских конференциях молодых ученых с международным участием (г. Самара, 2015, 2016, 2017 г.), межрегиональной научно-практической конференция молодых ученых и специалистов «Гигиена, экология и риски здоровью в современных условиях» (г. Саратов, 2017), научно-практической конференции с международным участием «Сложная пластическая хирургия лица и тела – 2019» (Санкт-Петербург, 2019), совместной конференции кафедр клинической медицины, хирургических болезней и медико-биологических дисциплин частного учреждения образовательной организации высшего образования «Медицинский университет «Реавиз».

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно собран и проведен аналитический обзор отечественных и зарубежных публикаций по исследуемой теме, разработан дизайн исследования, статистический инструментарий, проведены экспериментальные исследования. Диссертант самостоятельно сформулировал цель исследования, научные задачи, положения, выносимые на защиту. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с личным участием автора. Им же осуществлен анализ, интерпретация собранных материалов, сформулированы выводы и практические рекомендации.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты научного исследования внедрены в практику работы ГАУЗ «Энгельсская городская клиническая больница № 1» г. Энгельса, Военный госпиталь № 428 Министерства обороны Российской Федерации г. Саратова. Результаты исследований используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре патологии и морфологии у обучающихся лечебного факультета ЧУ ОО ВО «Медицинский университет «Реавиз».

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 6 работ, из них: 4 – статьи в журналах, входящих в Перечень, утверждённый ВАК при Минобрнауки России; 2 – тезисы в сборниках научных конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы, в которых изложены результаты собственного исследования, заключения и списка литературы. Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста, содержит 13 таблиц и 41 рисунок. Список литературы содержит 197 источников российской и зарубежной литературы, из них отечественных – 117, зарубежных – 80.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Экспериментальное исследование проведено на 120 неинбредных белых крысах-самках 6-месячного возраста. Данная модель является адекватной, так как молодой возраст подопытных животных обусловлен рекомендациями к применению методики имплантации монофиламентных биорезорбируемых нитей у пациентов эстетического профиля. По рекомендациям, коррекции данным методом могут подвергаться лишь начальные возрастные изменения кожи лица и тела [Долгушин И.И., Бухарин О.В., 2001; Кодяков А.А., Федоров П.Г., 2017].

При этом необходимо имплантировать не менее трех-четырёх нитей, так как в клинической практике имплантируется большое количество данных материалов на большие участки кожи у людей (живот, бёдра, лицо). Место имплантации (кожа поверхности спины, в стороне от позвоночного столба) выбрана по причине наименьшей подверженности деформации и повреждениям при жизнедеятельности подопытных животных, в отличие от кожи живота и конечностей.

Проведенное исследование направлено на сравнительную оценку состава и выраженности клеточной реакции на имплантацию нитей из полидиоксанона и поли-L-лактида, а также влияния данной процедуры на неоангиогенез и волокнистые компоненты дермы и подлежащего слоя подкожно-жировой клетчатки.

Эксперимент на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях. Соблюдение основных биоэтических норм при проведении исследования подтверждены заключением этического комитета Медицинского университета «Реавиз» г. Самары.

Методом случайной выборки было сформировано 6 групп по 20 крыс в каждой. Группам под номером 1 и 2 имплантированы монофиламентные нити из материала полидиоксанона, группам 3 и 4 имплантированы нити той же конфигурации из поли-L-молочной кислоты. Группы под номером 5 и 6 не подвергались выше описанным манипуляциям и выступали в качестве контроля.

Процедура имплантации осуществлялась под легким эфирным наркозом. Для этого на боковой поверхности туловища животного, справа от позвоночника и на 2 см выше хвоста, была сбрита шерсть. С соблюдением правил асептики и антисептики под кожу животного, субдермально, имплантировано по 4 нити из полидиоксанона или поли-L-молочной кислоты соответственно. Нити имплантированы параллельно друг другу, на расстоянии 1–1,5 мм.

Животные содержались в условиях вивария.

На 21-й день после имплантации гуманно забиты, путем декапитации, крысы из групп 1, 3 и 5. На 90-й день после имплантации таким же образом забиты крысы из групп 2, 4 и 6.

У крыс из опытных групп забраны лоскуты кожи с подкожно-жировой клетчаткой, размерами 1,5×1,5 см, в местах имплантации нитей. Также были забраны такого же размера лоскуты кожи у животных из групп контроля.

Из образцов тканей изготавливались гистологические препараты по общепринятой схеме, с окрашиванием гематоксилином и эозином. Данные препараты подвергались анализу с целью изучения выраженности клеточной реакции и состава регенеративного гистиона в опытных образцах.

Для оценки степени неоангиогенеза использовался иммуногистохимический метод. Перепараты опытных и контрольных групп окрашивались авидин-биотиновым пероксидазным методом антителами к CD31(ДАКО) и Factor VIII (ДАКО). Данные иммуногистохимические маркёры являются весьма специфичными для выявления эндотелиальных клеток.

CD31 (PECAM-1, platelet/endothelial cell adhesion molecule-1) – мембранный гликопротеид, представляющий собой молекулу межклеточной адгезии эндотелиальных клеток. Экспрессируется эндотелиоцитами, гранулоцитами и тромбоцитами. Является маркером эндотелиальных клеток при иммуногистохимическом исследовании, окрашивая их в коричневый цвет. Также окрашивает моноциты, мегакариоциты и плазматические клетки [Моисеева Е.В., 2014; Molea G. et al., 2000].

Factor VIII (фактор Виллебранда) – гликопротеин, опосредующий адгезию тромбоцитов к субэндотелию на участках сосудистого повреждения. Синтезируется в эндотелиальных клетках и мегакариоцитах. Антитела к Factor VIII окраши-

вают эндотелиоциты, мегакариоциты и, в меньшей степени, тромбоциты в коричневый цвет [Терских В.В., Васильев А.В., 2005; Chang E.I. et al., 2007].

Метод трихромного окрашивания по Маллори – был использован для оценки изменений волокнистых элементов в тканях. Метод основан на различном сродстве соединительнотканых волокон к кислым (пикриновая кислота) и основным (фуксин) красителям. В результате коллагеновые волокна окрашиваются в синий, эластические – в различные оттенки розового, эритроциты – желтые.

Полученные препараты подвергались морфометрическому анализу с последующей статистической обработкой результатов. Статистическую обработку данных выполняли при помощи программного пакета Microsoft Excel 2010. Анализ распределения данных был проведен при помощи критерия Шапиро – Уилка, анализ показал ненормальное распределение полученных данных во всех группах. Для описания данных группы рассчитывали медиану (Me), 25-й и 75-й квартили (q25, q75), минимум и максимум (min, max). Исходя из этого, для определения достоверности отличий в группах был использован непараметрический критерий Крускала – Уоллиса, который является непараметрической альтернативой межгрупповому дисперсионному анализу. Он используется для сравнения трех или более выборок, и проверяет нулевые гипотезы, согласно которым различные выборки были взяты из одного и того же распределения. После чего рассчитывали U-критерий Манна – Уитни для каждого показателя отдельно. В исследовании было представлено более 2 групп, поэтому для критерия Манна – Уитни применяли поправку Бонферрони. Одномоментно в исследовании сравниваются 3 группы, поэтому различия считали достоверными при критическом уровне значимости  $(p) \leq 0,017$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

В препаратах обеих контрольных групп наблюдалась гистологическая картина интактной кожи. При окраске гематоксилином и эозином хорошо визуализировался эпидермис, с дифференцировкой на слои, структура кератиноцитов без изменения. Дерма представлена клетками фибробластического дифферона и структури-

рованными коллагеновыми волокнами. Гиподерма не изменена, представлена сгруппированными адипоцитами и пучками соединительнотканых волокон между ними. Контуры жировых клеток отчетливы. Также визуализируются мышечные волокна с хорошо определяемой поперечной исчерченностью. Придатки кожи не изменены. Скопления клеток гематогенного и гистиогенного происхождения в межклеточном пространстве дермы и гиподермы не обнаруживаются. При анализе препаратов контрольной группы, окрашенных по методу Маллори, наблюдается преобладание коллагеновых волокон в дермальном слое. Эластические волокна визуализируются в составе стенок микрососудов, а также располагаются диффузно в межклеточном веществе дермы. В межклеточном веществе эластиновые волокна представлены в гораздо меньшем количестве по сравнению с волокнами коллагена, что закономерно для нормального строения интактной кожи. Иммуногистохимическое окрашивание маркерами эндотелиальных клеток CD31 и Factor VIII выявило равномерную капилляризацию дермы и гиподермы контрольных препаратов. Микрофотографии препаратов контрольных групп, окрашенные по методу Маллори и иммуногистохимическими маркерами, приведены ниже по тексту.

В исследуемой группе гистологических препаратов, полученных от животных на 21-е сутки эксперимента, выявлена умеренная клеточная реакция вокруг имплантированной нити из полидиоксанона. Визуализировались клетки гематогенного происхождения с окрашенными гематоксилином округлыми ядрами и окрашенные эозином соединительнотканые волокна. Клеточная реакция представлена сформированными очаговыми скоплениями клеток, с преимущественным преобладанием лимфоцитов и макрофагов, с примесью плазмоцитов и единичными гигантскими многоядерными клетками типа инородных тел вокруг введенных нитей. Перивазальные скопления клеток представлены преимущественно лимфоцитами и плазмócитами на фоне начинающегося коллагено- и неоангиогенеза. Наблюдается незначительное количество клеток фибробластического ряда. При этом полностью отсутствуют нейтрофилы. Присутствует большое количество новообразованных капилляров. В пограничных участках наблюдается узкая зона плотной неоформленной соединительной ткани

со слабо выраженным коллагеногенезом. Клетки фибробластического ряда незначительно преобладают над нежными тонкими волокнами коллагена (рис. 1).

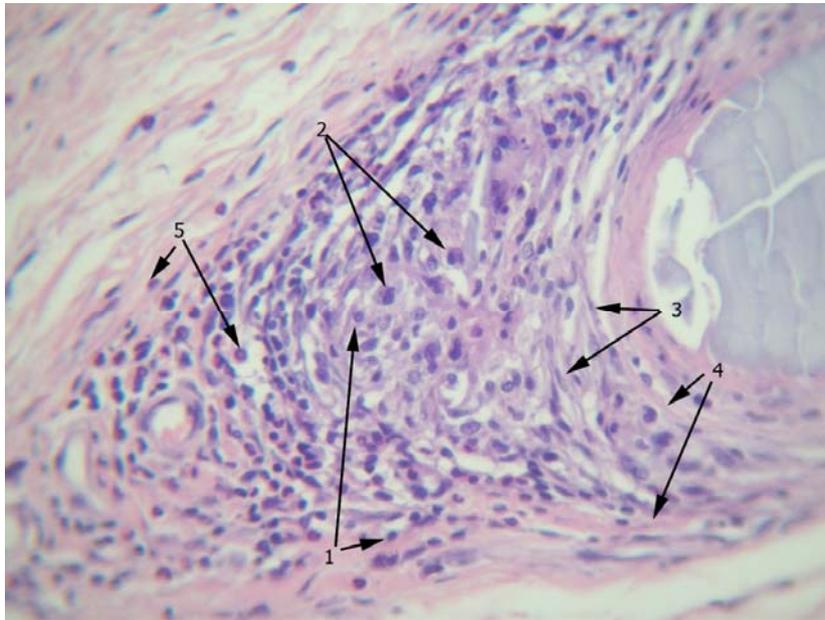


Рисунок 1 – Клетки регенеративного гистиона, представленные в основном лимфоцитами и макрофагами, с единичными гигантскими многоядерными клетками вокруг нитей из полидиоксанона на 21-е сутки эксперимента (окр. гематоксилин-эозин, ув. 450х): 1 – лимфоциты; 2 – макрофаги; 3 – фибробласты; 4 – новообразованные волокна коллагена; 5 – плазмоциты

В опытной группе гистологических препаратов, полученных от животных на 90-е сутки после введения нитей ПДО, в пограничной зоне выявлено формирование множественных капилляров. В пограничных участках перивазально обнаруживаются единичные плазмоциты и макрофаги. В зоне вокруг нитей выявляется крайне слабая продуктивная реакция с уменьшением количества лимфоцитов и многоядерных клеток, снижением общего числа и плотности клеток, на фоне образования волокон коллагена, концентрически окружающих нити, и мелких новообразованных сосудов. При этом непосредственно нити отграничены слоем макрофагов и фибробластов, а далее следуют концентрические структуры соединительнотканых волокон, чередующихся со слоями макрофагов и фибробластов. По периферии – слабо выраженное скопление клеток лимфоцитарного дифферона и макрофагов.

В исследуемой группе гистологических препаратов, полученных от животных 3-й группы (PLLA), умерщвленных на 21-е сутки после начала эксперимента, были выявлены минимальные пролиферативные изменения, с формированием слабо выраженных очагов скопления клеток регенеративного гистiona. Скопления клеток имели преимущественно лимфо-плазмоцитарный характер, с примесью макрофагов вокруг введенных нитей. В поверхностных слоях обнаруживаются очаги слабого отека дермы. Скопления клеток представлены преимущественно лимфоцитами на фоне новообразованного волокнистого компонента соединительной ткани и неоангиогенеза. Наблюдается незначительное количество клеток фибробластического ряда.

В гистологических препаратах опытной группы, полученных от животных на 90-е сутки после введения нитей из PLLA, в пограничной зоне выявлена пролиферация фибробластов и эндотелиальных клеток, формирующих множественные капилляры. В зоне вокруг нитей выявляется крайне слабая клеточная реакция, в количестве не более 40 клеток на  $1 \text{ мм}^2$ , с преобладанием лимфоцитов и плазмоцитов с единичными макрофагами и нейтрофилами, при этом эозинофилы в инфильтрате не встречались. В целом клеточная реакция, сформировавшаяся вокруг имплантированных нитей, слабо выражена и имеет отчетливую тенденцию к уменьшению в течение эксперимента, от 21-го к 90-му дню.

При оценке результатов окрашивания по Маллори выявлено увеличение относительной площади соединительной ткани в обеих экспериментальных группах препаратов крыс по сравнению с препаратами контрольной группы. В то время как между экспериментальными группами, содержащими разные виды имплантированного материала, статистически достоверная разница в приросте волокнистого компонента соединительной ткани отсутствует на всех сроках эксперимента.

При оценке ангиогенеза, сначала производилось иммуногистохимическое окрашивание антителами к CD31 и к Factor VIII контрольных препаратов с подсчетом количества капилляров в интактных тканях – дерме и гиподерме, полученные препараты представлены на рисунках 2 и 3.

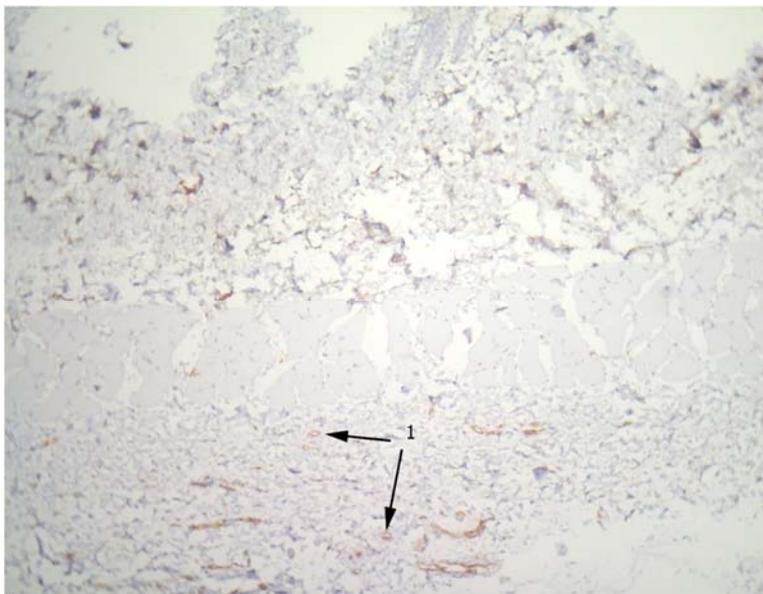


Рисунок 2 – Плотность распределения капилляров в гиподерме контрольной группы (окр. Factor VIII, увел. 200): 1 – капилляры

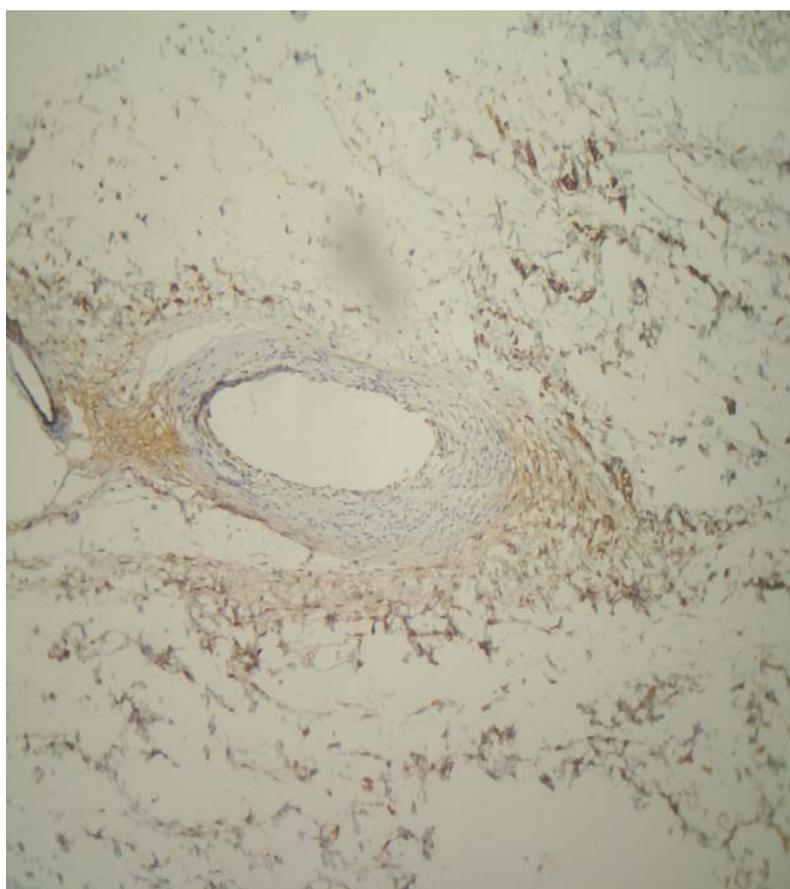


Рисунок 3 – Увеличение плотности микрососудов (коричневый) вокруг нити из поли-L-молочной кислоты на 90-й день после имплантации (окр. Factor VIII, увел. 120x)

Выявлено достоверное увеличение плотности капилляров перифокально в участках вокруг нитей, в дерме кожи, и в строме мышечной ткани между контрольной и обеими исследуемыми группами. Увеличение плотности микрососудов статистически значимо в отношении между группой контроля и обеими исследуемыми группами на всех сроках эксперимента. При сравнении показателей сосудистой плотности в исследуемых группах с разными нитями между собой, статистически достоверная разница отсутствовала, как на 21-й, так и на 90-й день эксперимента.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Процесс регенеративного гистогенеза являются ведущим звеном воздействия при подавляющем большинстве эстетических манипуляций. В связи с этим, интерес к гистологическим особенностям протекания данного процесса остается закономерно высоким. Проведенное исследование показало, что присутствует разница состава клеточной реакции вокруг имплантированных нитей из полидиоксанона и из поли-L-молочной кислоты, при отсутствии статистически значимой количественной разницы в выраженности клеточной реакции. Наблюдается достоверный прирост количества соединительнотканых волокон в препаратах обеих опытных групп по сравнению с группой контроля. Однако, достоверной разницы в приросте соединительной ткани между исследуемыми группами не наблюдается в течение всего времени эксперимента. Количество микрососудов на мм<sup>2</sup> в препаратах опытных групп достоверно больше, чем в группе контроля, на всех сроках эксперимента. При этом, статистически значимых различий между группами препаратов, содержащих разные виды материалов, не обнаружено. Таким образом, полученные в ходе эксперимента результаты, позволили сформулировать выводы и практические рекомендации.

## ВЫВОДЫ

1. Клеточная реакция вокруг обоих видов нитей характеризуется как «умеренная» – вокруг нитей из полидиоксанона, и «слабая» – вокруг нитей из поли-L-лактида. В клеточном составе регенеративного гистиона вокруг нитей из материала полидиоксанона преобладают макрофаги и присутствуют единичные гигантские многоядерные клетки инородных тел. Вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты скопление клеток имеет лимфо-плазмоцитарный характер, с единичными макрофагами. В обоих случаях выраженность клеточной реакции снижается в течение времени эксперимента, при этом качественный состав регенеративного гистиона остается неизменным.

2. Субдермальная имплантация нитей из обоих видов материалов стимулирует новообразование и значимый прирост волокнистого компонента в окружающей соединительной ткани, включая зону вокруг нитей, пограничную зону и подлежащую дерму кожи. Регистрируется прирост как коллагеновых, так и эластических волокон в течение всего времени эксперимента.

3. Имплантация нитей из обоих видов материалов стимулирует неоангиогенез в окружающих тканях и подлежащей дерме кожи. Разница является статистически достоверной, по сравнению с препаратами группы контроля, и имеет тенденцию к увеличению в течение всего времени эксперимента.

4. Присутствует разность клеточного состава регенеративного гистиона вокруг нитей из полидиоксанона и нитей из поли-L-лактида. Предположительно, она обусловлена более интенсивным процессом резорбции полидиоксанона в тканях организма. Общий количественный прирост соединительнотканых волокон при сравнении опытных групп препаратов между собой не имеет достоверной разницы как на 21-й, так и на 90-й день эксперимента. При этом препаратах, содержащих нити из поли-L-лактида, сравнительно более выражен прирост коллагеновых волокон, в сравнении с препаратами, содержащими нити из полидиоксанона. Подобная тенденция сохраняется в течение всего времени эксперимента. Процесс неоангиогенеза не имеет значимых различий между исследуемыми группами препаратов, ни на одном из регистрируемых сроков.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Монофиламентные биodeградируемые нити на основе полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты являются безопасными при субдермальной имплантации *in vivo*, поскольку не вызывают дегенеративные изменения в тканях, не способствуют формированию фиброзной капсулы и жировых инфильтратов.

2. Возможна имплантация монофиламентных биodeградируемых нитей на расстоянии, не превышающем 1–2 мм друг от друга, поскольку клеточная и тканевая реакция на их присутствие не приводит к эффекту сморщивания за счет активного формирования соединительной ткани с преобладанием волокнистого компонента.

3. Результаты постмаркетинговой экспериментальной оценки показали, что монофиламентные биodeградируемые нити на основе полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты могут применяться для армирования мягких тканей, при этом, исходя из особенностей клеточной реакции окружающих тканей, применение нитей из поли-L-лактида, по сравнению с нитями из полидиоксанона, будет иметь меньшую вероятность развития гранулемы инородного тела вокруг имплантированной нити и, в дальнейшем, формирования избыточного фиброза. Соответственно, применение нитей из поли-L-лактида будет являться более предпочтительным в клинической практике.

4. Предложенная экспериментальная модель является адекватной и реализуемой в условиях постмаркетинговой оценки безопасности и эффективности нитей для армирования кожи.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Морфологическая реакция кожи на субдермальное введение монофиламентных нитей из полидиоксанона [Текст] / Е.В. Штыркова [и др.] // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2018. – № 2 (21). – С. 139–144.
2. Морфологические изменения кожи в ответ на субдермальное введение монофиламентных нитей из полидиоксанона [Текст] / Е.В. Штыркова [и др.] // **Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»**. – 2019. – № 3 (39). – С. 145–153.
3. Морфологические изменения кожи крыс в ответ на субдермальное введение нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) для профилактики старения [Текст] / Е.В. Штыркова [и др.] // Материалы юбилейной научно-практической конференции «Клинические и медико-биологические аспекты активного долголетия». – Самара, 2018.
4. Характеристика морфологических изменений кожи в ответ на субдермальное введение монофиламентных нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) [Текст] / Е.В. Штыркова [и др.] // **Пластическая хирургия и эстетическая медицина** (индексируется Scopus). – 2019. – № 2. – С. 21–26.
5. Штыркова, Е.В. Фибробласты дермы. Источники дифференцировки, пролиферативная активность и методы ее стимуляции [Текст] / Е.В. Штыркова // **Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»**. – 2017. – № 6 (30). – С. 42–49.
6. Штыркова, Е.В. Характеристика морфологических изменений кожи в ответ на субдермальное введение монофиламентных нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) [Текст] / Е.В. Штыркова, С.В. Полетаева, А.А. Супильников // Материалы международной научной конференции «Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия: итоги и перспективы» Оренбург, 15–17 октября 2019 г. Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). – 2019. – № 2. – Т. 3. – С. 108.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ПДО – полидиоксанон

УФО – ультрафиолетовое облучение

CD31 – cluster of differentiation 31, кластер дифференцировки 31

IL-1 – интерлейкин 1

IL-2 – интерлейкин 2

IL-3 – интерлейкин 3

IL-4 – интерлейкин 4

IL-5 – интерлейкин 5

IL-6 – интерлейкин 6

PLLA – poly-L-lactic acid, поли-L-молочная кислота

TNF- $\alpha$  – tumor necrosis factor alfa; фактор некроза опухолей альфа