

Ю.А. Менчишева, У.Р. Мирзакулова

Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова  
Кафедра хирургической стоматологии

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АУТОЛОГИЧНОЙ БОГАТОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ В ЗАЖИВЛЕНИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ РАН МЯГКИХ ТКАНЕЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

*В работе проведен анализ эффективности применения PRP в заживлении послеоперационных ран мягких тканей челюстно-лицевой области с помощью определения интерлейкинов в раневом экссудате.*

*Были исследованы 100 пациентов от 18 до 60 лет отделения «Челюстно-лицевой хирургии №1» городской клинической больницы №5г. Алматы, поступивших в плановом порядке с целью проведения пластических и реконструктивных операций с 2017 по 2018 г. Оценка результатов применения PRP проводилась при помощи определения цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6 в серозном отделяемом послеоперационных ран на 1-е, 3-и и 5-е сутки методом иммуноферментного анализа.*

*Повышение концентрации IL-1 и TNF- $\alpha$  в основной группе в 1-е сутки после операции можно оценить, как активацию фазы воспаления за счет инициации миграции клеток в результате действия факторов роста, содержащихся в PRP. Увеличение цитокинов IL-1 и TNF- $\alpha$  на 5-е сутки в основной группе в сочетании с объективными данными свидетельствовало об активации фазы пролиферации.*

**Ключевые слова:** богатая тромбоцитами плазма, цитокины, раневое отделяемое

### **Введение.**

Одной из проблем хирургии является разработка эффективных методов оптимизации заживления послеоперационных ран мягких тканей, особенно у пациентов с риском развития осложнений в раннем послеоперационном периоде [1]. Аутологичная богатая тромбоцитами плазма (PRP) эффективно зарекомендовала себя в лечении ран различной этиологии [2, 3]. PRP - это концентрат тромбоцитов, индуцирующий регенерацию тканей и заживление ран [4]. PRP содержит факторы роста, механизм действия которых заключается в молекулярной и клеточной индукции нормального процесса ранозаживления [5, 6].

Экссудат послеоперационных ран содержит провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), интерлейкин-6 (IL-6) и фактор некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ) [7]. Связь между пролиферацией фибробластов и локальным увеличением концентрации провоспалительных цитокинов в ранах была найдена в исследовании Inoue и др. [8]. С помощью локального определения цитокинов в экссудате послеоперационных ран можно судить не только о воспалительной фазе процесса заживления ран, но и об интенсивности пролиферативной фазы.

**Цель исследования:** анализ эффективности применения PRP в заживлении послеоперационных ран мягких тканей челюстно-лицевой области с помощью определения интерлейкинов в раневом экссудате.

### **Материалы и методы.**

Нами были исследованы 100 пациентов (50 пациентов основной группы, 50 пациентов группы сравнения) от 18 лет и старше отделения «Челюстно-лицевой хирургии №1» городской клинической больницы №5г. Алматы, поступивших в плановом порядке с целью проведения пластических и реконструктивных операций с 2017 по 2018 г.

Внутри каждой группы у участников исследования при помощи математического моделирования с использованием формулы дискриминантного анализа было произведено прогнозирование риска развития осложнений в раннем послеоперационном периоде.

У всех пациентов основной группы с целью оптимизации заживления послеоперационных ран мягких тканей челюстно-лицевой области была применена аутологичная богатая тромбоцитами плазма (PRP). Получение PRP проводилось по методике Ахмерова. Забор крови осуществлялся в объеме от 9 до 27 мл с помощью иглы-катетера в вакуумные пробирки, затем кровь центрифугировали в течение 5 минут со скоростью вращения 3000 об/мин [9]. Инъекции плазмы проводились в конце оперативного лечения интрадермально после наложения швов на рану, отступя от края раны 0,5 см в виде папул на расстоянии 1,5–2 см друг от друга. Лечение пациентов группы сравнения проводилось согласно Протоколу МЗ РК, которое являлось идентичным лечению пациентов основной группы в послеоперационном периоде и включало следующее: ежедневные перевязки с антисептическими растворами, антибактериальную терапию препаратами широкого спектра действия цефалоспоринового ряда, назначение анальгетиков, назначение фунгицидного препарата по схеме на фоне антибактериального лечения.

Оценка результатов применения PRP проводилась при помощи иммуноферментного анализа - определения провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6 в серозном отделяемом послеоперационных ран на 1-е, 3-и и 5-е сутки сэндвич-методом с помощью реактивов «Вектор-Бест»

(Россия) по методике Беляевой О.В. Стерильные диски диаметром 5,0 мм, сделанные из хроматографической бумаги, помещали на послеоперационную раневую поверхность. После пропитывания дисков жидким содержимым, их сушили на воздухе при комнатной температуре, помещали в пластиковые стерильные пробирки, разбавляли 1 см<sup>3</sup> нормального физиологического раствора. Учитывалась множественность разбавления элюгированного материала при расчете концентрации провоспалительных цитокинов [10].

#### Результаты исследования.

Концентрация IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-6 в раневой жидкости в основной группе через 2 часа и на 1-й день после операции была выше, чем в контрольной группе, что подтверждает факт стимуляции воспалительной фазы в послеоперационной ране за счет PRP. На 3-й день не было существенной разницы между концентрацией цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  в группах основной и контрольной, но уровень IL-6 был в 3 раза выше в основной группе, хотя закономерно уровень цитокинов в обеих группах снизился по сравнению с первыми сутками после операции. На 5-й день наблюдалось увеличение концентрации IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  в основной группе (Таблица1). Увеличение концентрации цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  объективно сопровождалось видимым заживлением ран. В контрольной группе уровень IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  цитокинов был ниже на 5-й день. Концентрация IL-6, наоборот, была выше, что свидетельствовало об удлинении фазы воспаления. Статистическую значимость анализировали с помощью теста Манна-Уитни U. P<0,05 считалось статистически достоверным.

Таблица 1 - Концентрация провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-6 в раневом экссудате (pg/mL)

	Время	Группа		
		Основная (n=50)	Сравнения (n=50)	P (U Test)
IL-1 $\beta$	1 сутки	35,9 $\pm$ 15,1	27,1 $\pm$ 10,5	<0,05
	3 сутки	7,4 $\pm$ 2,3	7,4 $\pm$ 2,5	<0,05
	5 сутки	25,4 $\pm$ 12,1	17,8 $\pm$ 6,9	<0,05
TNF- $\alpha$	1 сутки	100,3 $\pm$ 24,1	96,8 $\pm$ 14,4	<0,05
	3 сутки	19,5 $\pm$ 8,4	24,1 $\pm$ 7,1	<0,05
	5 сутки	37,8 $\pm$ 13,3	28,8 $\pm$ 12,4	<0,05
IL-6	1 сутки	73,4 $\pm$ 6,1	100,8 $\pm$ 16,7	<0,05
	3 сутки	29 $\pm$ 18,7	88,7 $\pm$ 18,6	<0,05
	5 сутки	17,3 $\pm$ 2,6	100,6 $\pm$ 5,6	<0,05

#### Обсуждение и заключение.

Определение концентрации интерлейкинов в серозном отделяемом ран было описано в ряде исследований. Концентрация IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IL-6 в раневом отделяемом закономерно увеличивается после операции [7]. IL-1 $\beta$  не обнаруживается в неповрежденной коже. Синтез данного цитокина происходит в течение 30-90 минут в области поврежденных тканей [11]. IL-1 и TNF $\alpha$  выделяются кератиноцитами сразу после нанесения повреждения [12]. По данным DiVitaи др. (2006) IL-1 увеличивается у пациентов на первый и второй послеоперационные дни [13]. Синтез IL-1 необходим для развития местного воспаления и для реакции острой фазы. Основными клетками, продуцирующими IL-1 после повреждения кожи, являются нейтрофилы, моноциты и макрофаги. Данные факт объясняет увеличение концентрации IL-1 и TNF $\alpha$  в основной группе и группе сравнения. Применение PRP увеличивает концентрацию факторов роста в послеоперационной ране, что приводит к миграции клеток в очаг поражения, которые синтезируют IL-1 и TNF $\alpha$ . Evertsi др. (2007) в своем исследовании подтверждают, что в первые 2 дня заживления ран воспалительный процесс инициируется миграцией нейтрофилов [14]. В дальнейшем увеличение концентрации IL-1 и TNF $\alpha$ , особенно на 5-й день коррелирует с увеличением фибробластов и уменьшением числа нейтрофилов, что является сигналом начала фазы пролиферации, а сохранение высоких показателей концентрации IL-6 свидетельствует о выраженности и удлинении фазы воспаления.

#### Выводы.

На основании результатов исследования можно сделать вывод, что использование аутологичной богатой тромбоцитами плазмы с целью заживления послеоперационных ран мягких тканей челюстно-лицевой области у пациентов основной группы оказывает положительный лечебный эффект. При этом повышение концентрации IL-1 и TNF- $\alpha$  в первые сутки в основной группе можно оценить как активацию фазы воспаления за счет инициации миграции клеток за счет действия факторов роста, содержащихся в PRP. Увеличение цитокинов IL-1 и TNF- $\alpha$  на 5-е сутки в сочетании с объективными данными свидетельствует об активации фазы пролиферации.

- 1 Оганесян А.Р. Систематизация ошибок в практике реконструктивной хирургии // *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* – 2004. – № 4. – С. 123–124.
- 2 Salcido RS., Autologous platelet-rich plasma in chronic wounds. // *Adv Skin Wound Care.* – 2013. - №26(6). – P. 248-254.
- 3 Wang L., Gu Z., and Gao C., Platelet-rich plasma for treating acute wounds: a meta-analysis // *Zhonghua Yi XueZaZhi.* – 2014. - vol. 94, №28. - P. 2169–2174.
- 4 Robert E. Marx Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? // *Implantdentistry.* – 2001. - Vol.10, №4. – P. 225 – 228.
- 5 Просяникова Н.В. Аутологичная, богатая тромбоцитами плазма в лечении язвенных поражений нижних конечностей: Дисс. ... канд.мед.наук - М., 2014. – 124 с.
- 6 Wang L, Gu Z, Gao C. Platelet-rich plasma for treating acute wounds: a meta-analysis // *Zhonghua Yi XueZaZhi.* – 2014. - №28. – P. 2169–2174.
- 7 Yager DR, Kulina RA, Gilman LA. Wound fluids: a window into the wound environment? // *Int J Low Extrem Wounds.* – 2007. - №6(4). – P. 262-272.
- 8 Inoue M, Zhou LJ, Gunji H, Ono I, Kaneko F. Effects of cytokines in burn blister fluids on fibroblast proliferation and their inhibition with the use of neutralizing antibodies // *Wound Repair Regen.* – 1996. - №4. – P. 426–432.
- 9 Ahmerov R. Regenerative medicine based on autologous plasma. Technology Plasmolifting TM. – SPb.: 2014. – P.160-168.
- 10 Беляева О.В., Кеворков Н.Н. Влияние комплексной терапии на показатели местного иммунитета больных пародонтитом // *Цитокины и воспаление.* - 2002. - Т.1, №4. - С. 34–37.
- 11 Gohel MS. The relationship between cytokine concentrations and wound healing in chronic venous ulceration // *J VascSurg.* – 2008. - №48. – P. 1272-1277
- 12 Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Nusbaum AG, Sawaya A, Patel SB, Khalid L, Isseroff RR, Tomic-Canic M. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review // *Adv Wound Care.* - New Rochelle: 2014. - №3(7). – P. 445-464.
- 13 Di Vita G. Modifications in the production of cytokines and growth factors in drainage fluids following mesh implantation after incisional hernia repair // *The American Journal of Surgery.* – 2006. - №191. – P. 785–790.
- 14 Everts PA, Overdevest EP, Jakimowicz JJ, Oosterbos CJ, Schönberger JP, Knappe JT, van Zundert A.. The use of autologous platelet-leukocyte gels to enhance the healing process in surgery, a review // *Surgical Endoscopy.* – 2007. – Vol.21, Issue 11. – P. 2063–2068.

**Ю.А. Менчишева, У.Р. Мирзакулова**

*С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университеті  
Хирургиялық стоматология кафедрасы*

### **АУТОЛОГИЯЛЫҚ ТРОМБОЦИТКЕ БАЙ САРЫСУДЫ ОТАДАН КЕЙІНГІ ЖАҚ-БЕТ АЙМАҒЫ ЖҰМСАҚ ҰЛПАЛАР ЖАРАСЫНЫҢ ЖАЗЫЛУЫНА ҚОЛДАНУДЫҢ ТИІМДІЛІГІН БАҒАЛАУ ҮШІН ИНТЕРЛЕЙКИНДЕРДІ АНЫҚТАУ**

**Түйін:** Осы ғылыми жұмыста PRP-ді отадан кейінгі жақ-бет аймағы жұмсақ ұлпалар жарасының қолданудың тиімділігін бағалау үшін интерлейкиндердің анықтау ұсынылды. Алматы қаласының №5 қалалық клиникалық ауруханасының «№1 жақ –бет хирургиясына» 2017 жылдан 2018 жыл арасында жоспарлы түрде пластикалық және өңдеу оталарын жүргізу мақсатында түскен 100 науқас зерттелді. PRP-ді қолдану қортындысын бағалау, отадан кейінгі 1-ші,3-ші және 5-ші тәулікте жараның сұрғылт бөліндісіндегі IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6 цитокиндері иммуноферменттік талдау әдісімен анықтау арқылы жүргізілді

Отадан кейінгі 1-ші тәуліктерде негізгі топтың IL-1 және TNF- $\alpha$  концентрациясының жоғарлауын, қабыну фазасының белсінділігі PRP құрамындағы өсу факторларының әсерінен, жасушалардың көшуінің басталуымен бағалауға болады. IL-1 және TNF- $\alpha$  цитокиндерінің жоғарлауы 5-ші тәулікте негізгі топта объективтік деректермен бірлесе отырып пролиферация фазасының қарқындалатылғанын айқындайды.

**Түйінді сөздер:** тромбоцитке бай сары су, цитокиндер,жара бөліндісі

**Y. Menchisheva, U. Mirzakulova**

*Asfendiyarov Kazakh National medical university  
Department of Surgical Dentistry*

## **THE ASSESSMENT OF THE EFFICIENCY OF THE USE OF AUTOLOGOUS PLATELET RICH PLASMA IN POSTOPERATIVE WOUND HEALING IN THE MAXILLOFACIAL REGION BY DETERMINATION OF INTERLEUKINS**

**Resume:** The study shows the analysis of the efficiency of the use of PRP in postoperative wounds healing by determination of interleukins in the wound exudate.

100 patients aged 18 to 60 who were undergoing plastic and reconstructive surgery from 2017 to 2018 in the maxillofacial area in the Department of Maxillofacial Surgery N.1 of the City Hospital N.5 enrolled to the study. Evaluation of the results of the use of PRP was carried out by determining the cytokines IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6 in the serous discharge of postoperative wounds on the 1st, 3rd and the 5th day by the enzyme-linked immunosorbent assay

The increase of the concentration of IL-1 and TNF- $\alpha$  in the main group on the 1st day after the operation can be assessed as the activation of the inflammation phase due to the initiation of cell migration as a result of the effect of growth factors contained in PRP. The increase in cytokines IL-1 and TNF- $\alpha$  on the 5th day in the main group, combined with objective data, indicated about the activation of the proliferation phase.

**Keywords:** platelet-rich plasma, cytokines, wound discharge