

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВИДА ЭНДОПРОТЕЗА И АУТОГЕМОТЕРАПИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИГАНТСКИХ МНОГОЯДЕРНЫХ КЛЕТОК

## EXPERIMENTAL JUSTIFICATION OF THE INFLUENCE OF THE TYPE OF ENDOPROTESIS AND AUTOGEMOTHERAPY ON MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF GIANT MULTINUCLEAR CELLS

Затолокина Мария Алексеевна,  
Цымбалюк Вадим Вадимович,  
Мутова Тамара Викторовна,  
Затолокина Евгения Сергеевна,  
Мишина Екатерина Сергеевна

Zatolokina Maria Alekseevna,  
Tsymbalyuk Vadim Vadimovich,  
Mutova Tamara Viktorovna,  
Zatolokina Evgenia Sergeevna,  
Mishina Ekaterina Sergeevna

Курский государственный медицинский  
университет

Kursk State Medical University

E-mail: [ZatolokinaMA@kursksmu.net](mailto:ZatolokinaMA@kursksmu.net)

### Резюме

Отсутствие в литературе достаточного количества данных о возможной причастности гигантских многоядерных клеток к процессам регенерации тканей, окружающих эндопротезы, используемые в герниологии при пластике брюшной стенки, и определили необходимость проведения данного эксперимента. Целью исследования явилось изучение морфологических особенностей многоядерных клеток при имплантации сетчатых эндопротезов в ткани передней брюшной стенки. Экспериментальное исследование было выполнено на кроликах-самцах породы шиншилла. Было замечено, что на ранних сроках многоядерные клетки локализуются чаще на нитях эндопротеза, затем между ними и позднее во внутреннем слое сформированной перипротезной капсулы. Нанесение на эндопротез материала с антимикробным или антибактериальным покрытием, а также одновременное введение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, под эндопротез приводит к появлению в перипротезных тканях морфологически разных видов многоядерных клеток с разной степенью функциональной активности.

**Ключевые слова:** многоядерные гигантские клетки, эндопротезы, пролиферативная активность, аутоплазма, обогащенная тромбоцитами

### Summary

In the literature there is no data on the possible involvement of giant multicore cells in the processes of regeneration of tissues surrounding the endoprostheses used in herniology in the plastics of the abdominal wall. The purpose of this study was to study the morphological features of multinucleated cells during the implantation of mesh endoprostheses in the tissue of the anterior abdominal wall. An experimental study was performed on male rabbits of the Chinsila breed. It was noted that in the early stages, multinucleated cells are localized more often on the endoprosthesis threads, then between them and later in the inner layer of the formed periprosthetic capsule. Application to the endoprosthesis of a material with an antimicrobial or antibacterial coating, as well as the simultaneous introduction of autoplasm enriched with platelets under the endoprosthesis leads to the appearance in the periprosthetic tissues of morphologically different types of multicore cells.

**Key words:** multinucleated giant cells, endoprostheses, proliferative activity, autoplasm enriched with platelets

### Библиографическая ссылка на статью

Затолокина М.А., Цымбалюк В.В., Мутова Т.В., Затолокина Е.С., Мишина Е.С. Экспериментальное обоснование влияния вида эндопротеза и аутогемотерапии на морфофункциональные особенности гигантских многоядерных клеток // Innova. - 2019. - № 1 (14). - С. 34-40.

### References to the article

Zatolokina M.A., Tsymbalyuk V.V., Mutova T.V., Zatolokina E.S., Mishina E.S. Experimental justification of the influence of the type of endoprosthesis and autogemotherapy on morphofunctional features of giant multinuclear cells // Innova. - 2019. - № 1 (14). - P. 34-40.

DOI:

Впервые многоядерные гигантские клетки (МГК) были обнаружены в зародышевых кроветворных органах в 1870 году С.Н. Колачевским, который выявил их на препаратах селезенки и печени зародышей разных животных. В качестве реактивных образований многоядерные клетки определяются в ретикулярной ткани, это так называемые остеокласты или «костеразрушители», в соединительной ткани при воспалительных процессах они называются некрофагами, гигантскими клетками инородных тел и клетками Пирогова-Лангханса и, наконец, многоядерные клетки эпителиального происхождения называются клетками Подвысоцкого [1, 2]. Относительно генеза МГК в литературе существует три точки зрения по этому поводу. Одни авторы, приверженцы так называемой синцитиальной теории, утверждают, что многоядерность клеток возникает вследствие слияния нескольких одноядерных клеток. Другие же утверждают, что многоядерные клетки образуются путем прямого или непрямого деления ядра одной клетки, это сторонники пролиферативной теории. При этом существует еще и третье мнение, авторы которого считают оба способа возникновения их одинаково возможными [5, 6]. Роль и значение МГК были определены И.И. Мечниковым (1883 г.), который в целом ряде экспериментальных работ, показал, что эти клетки представляют собой активные фагоциты, появляющиеся в качестве реактивных образований при явлениях почти на всех ступенях животного царства [7, 8]. В настоящее время ни у кого не вызывает сомнений, что МГК являются реактивными образованиями и особыми формами макрофагов, которые очень активны в борьбе против инородных тел, которыми в данной работе являются эндопротезы, используемые в герниопластике и оказывающие непосредственное влияние на процессы регенерации перипротезных тканей и скорость приживления импланта [3, 4]. В связи с этим целью данной работы явилось изучение морфологических особенностей многоядерных клеток при имплантации сетчатых эндопротезов в ткани передней брюшной стенки.

### Материалы и методы

Экспериментальное исследование было выполнено на кроликах-самцах породы шиншила. Животные были разделены на несколько групп, в зависимости от вида эндопротеза и условий его имплантации. Первой группе имплантировали эндопротез «Плазмофильтр» с антимикробным покрытием. Второй группе – эндопротез «Эсфил», третьей группе – эндопротез «Унифлекс+Ag» с антибактериальным покрытием ионами серебра,

четвертой группе – эндопротез «Гинефлекс» и пятой группе – эндопротез «Гинефлекс» с одновременным введением под эндопротез аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами. Животных выводили из эксперимента на 3-й, 7, 14 и 21-е сутки эксперимента путем передозировки средств для наркоза. Для морфологического исследования изготавливали гистологические срезы и окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван Гизон, по Маллори и проводили иммуногистохимическое исследование. Для всех данных применена описательная статистика, данные проверены на нормальность распределения. Различия были определены при 0,05 уровне значимости. Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения Statistica 10.0.

### Результаты и обсуждение

При эндопротезировании передней брюшной стенки «Плазмофильтром» между пучками нитей эндопротеза визуализируются пул макрофагов и небольших размеров многоядерные оксифильные клетки овальной формы, с периферическим расположением гипохромных ядер, количество которых составило 6-9 на одну клетку, в один слой. Через две недели от начала эксперимента, количество МГК на единице площади среза увеличивается в 1,2 раза (с  $26,12 \pm 0,01$  до  $31,34 \pm 0,01$ ) в сравнении с предыдущим сроком. Наблюдается процесс слияния макрофагов и образования МГК, содержащих 2-3 гипохромных ядра с хорошо визуализируемыми ядрышками. Непосредственно на нитях эндопротеза многоядерные клетки более крупные, их размеры варьируют от  $19,21 \pm 1,51$  мкм до  $24,52 \pm 2,21$  мкм, округлой или овальной формы. Цитоплазма ярко оксифильная. Ядра гиперхромные, расположены в один ряд по периферии клетки. К окончанию эксперимента многоядерные клетки становятся действительно гигантскими, их размеры достигают  $110 \pm 0,12$  мкм в длину и  $40 \pm 0,07$  мкм в ширину. Форма клеток овальная, нормохромные ядра расположены в несколько рядов по периферии клетки в оксифильной цитоплазме, их количество достигает полусотни на одну клетку. Следует отметить, что на данном сроке также встречаются морфологически другие гигантские многоядерные клетки, внешне похожие на «клетки Подвысоцкого». Форма таких клеток правильная, овальная. Ядра крупные, нормохромные, с хорошо визуализируемым темно базофильным ядрышком. Ядра расположены плотно, равномерно по всей территории клетки, внешне напоминают тутовую ягоду. Располагаются МГК преимущественно между нитями эндопротеза и во внутреннем слое новообразованной перипротезной

соединительнотканной капсулы. При имплантации эндопротеза «Эсфил» обращает на себя внимание преобладание на разных сроках эксперимента разных морфологических типов МГК. В частности, через две недели после эндопротезирования передней брюшной стенки «Эсфилом» в поле зрения наблюдались только многоядерные клетки по типу Пирогова-Лангханса. Локализовались они непосредственно на нитях эндопротеза, овальной или неправильной формы. Их размеры варьировали от  $29,15 \pm 0,19$  мкм до  $34,12 \pm 1,01$  мкм, контуры клеток четкие, хорошо различимы. Цитоплазма оксифильная, но не гомогенная, более светлые участки визуализировались в центре клетки, где нет ядер. Ядра овальной или округлой формы, гипохромные, расположены по периферии клетки в виде «подковы» в один ряд. К 21-м суткам эксперимента происходили изменения не только в локализации МГК, но и наблюдались изменения в их внешней структуре. Многоядерные клетки приобретали овальную форму, ядра округлые, гиперхромные, расположены по всей территории клетки, хаотично, без выраженной зональности в сравнении с предыдущим сроком имплантации. Количество МГК на единице площади среза статистически значимо ( $p \leq 0,05$ ) снижалось в 1,5 раза (с  $26,12 \pm 0,01$  до  $17,33 \pm 0,01$ ), и локализовались они уже не на нитях эндопротеза, а на некотором расстоянии от них или между нитями. В группе наблюдений с имплантацией эндопротеза «Унифлекс+Ag» с антибактериальным покрытием ионами серебра, на 7-е сутки в перипротезном клеточном инфильтрате наблюдался процесс слияния эпителиоидных клеток и образования МГК по типу клеток Пирогова-Лангханса. Многоядерные клетки мелкие, их размеры варьировали от  $12 \pm 0,18$  мкм до  $23 \pm 0,96$  мкм. Цитоплазма гомогенная, оксифильная. Ядра округлые, гиперхромные, в количестве 5-12 на одну клетку, расположены по периферии клетки на одном из ее полюсов или по типу подковы. К 14-м суткам в цитоплазме многоядерных клеток хорошо визуализировались фагоцитированные частицы серебра. Плотность клеток на единице площади статистически значимо ( $p \leq 0,05$ ) возрастала в 2 раза, при этом их размеры достоверно не изменялись, в сравнении с предыдущим сроком эксперимента. К окончанию эксперимента МГК локализовались только между нитями эндопротеза, вблизи кровеносных сосудов. Их контуры четкие, форма овальная или округлая. Ядра преимущественно нормохромные, в некоторых клетках гипохромные, крупные и расположены по периферии гомогенной оксифильной цитоплазмы. В группе наблюдения с имплантацией эндопротеза «Гинифлекс» на 7-е сутки после оперативного вмешательства, на незначительном расстоянии от нитей протеза

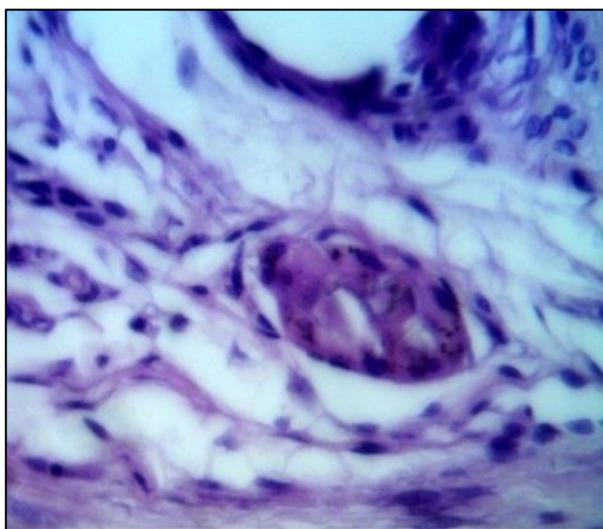
были выявлены крупные конгломераты клеток, достигающие до  $100 \pm 4,23$  мкм в диаметре, с участками резорбции в цитоплазме, которые были образованы слившимися макрофагами (рисунок 1А). Через две недели от начала эксперимента, МГК имели очень крупные размеры – до  $100-110 \pm 2,54$  мкм в диаметре, с нечеткими расплывчатыми контурами, причудливой формы. При окраске по Маллори цитоплазма была гомогенной. Темно-базофильные, овальной формы ядра располагались преимущественно на одном из полюсов клетки, наслаиваясь друг на друга (рисунок 1Б). К окончанию эксперимента МГК уменьшались в размерах. Форма клеток варьировал от округлой до овальной. Располагались многоядерные клетки преимущественно во внутреннем клеточном слое сформированной зрелой перипротезной капсулы. Количество ядер в клетках уменьшалось, и располагались они в один ряд по периферии клетки, приобретая сходство с клетками Пирогова-Лангханса. При введении аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в перипротезной ткани визуализировались три типа многоядерных клеток: одни клетки морфологически похожие на клетки Подвысоцкого, определялись на 7-х сутках эксперимента, были овальной формы, их нормо- и гипохромные ядра располагались по всей цитоплазме клетки равномерно и плотно друг к другу, напоминая тутовую ягоду (рисунок 2А). Второй вид клеток – по типу клеток Пирогова-Лангханса были овальной формы, их ядра располагались по периферии клетки, в один ряд, в виде подковы. Для третьего вида клеток было характерно неравномерное и хаотичное распределение гипохромных ядер по всей цитоплазме или с наибольшей локализацией их на одном из полюсов клетки (рисунок 2В, Г). Локализовались многоядерные клетки между нитями эндопротеза, вблизи кровеносных сосудов.

Следует отметить еще один аспект, при проведении иммуногистохимического исследования пролиферативной активности клеточного компонента соединительной ткани, окружающей эндопротез, по экспрессии Ki-67, среди многоядерных клеток не было выявлено ни одной дающей положительную экспрессию Ki-67, т.е. находящихся в активной фазе клеточного цикла (G1-, S-, G2- и M-фазы) (рисунок 2Б).

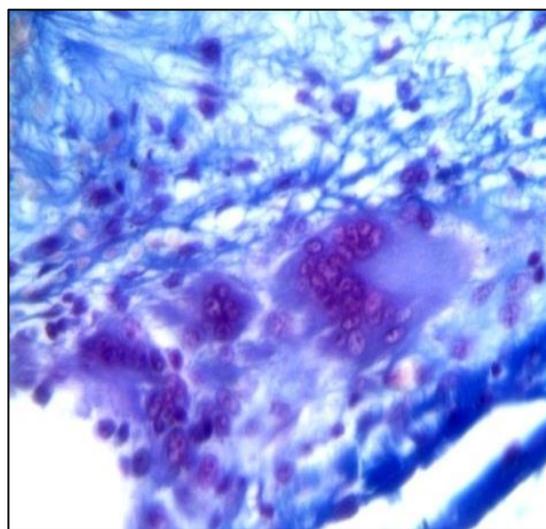
К окончанию эксперимента в условиях введения АПоТр произошло статистически значимое ( $p \leq 0,05$ ) снижение количества клеток на стандартной площади среза, уменьшение их размеров до  $28,43 \pm 3,66$  мкм и занимаемой площади в 1,3 раза (с  $4600,211 \pm 48,55$  мкм<sup>2</sup> до  $3501,68 \pm 27,43$  мкм<sup>2</sup>) на фоне снижения количества ядер в 1,9 раза (с  $4,71 \pm 0,11$  до  $8,75 \pm 0,21$ ).

Итак, гигантские многоядерные клетки, действительно ли их наличие является негативным фактором для приживления импланта? Есть ли закономерности в их структурно-функциональной организации, зависящие от вида эндопротезирования? На эти и еще некоторые другие вопросы постараемся ответить, проанализировав полученные нами экспериментальные данные. Вначале следует остановиться на терминологии. Термин «гигантские» является не совсем корректным в силу того, что нет четких размерных характеристик, подтверждающих гигантские размеры клетки, и не всегда есть возможность установить границу между крупной и гигантской клеткой. «Многоядерность» встречается и в нормальном состоянии, например: мегакариоциты, синцитиотрофобласты, остеокласты, однако более часто они встречаются при регенеративных и воспалительных процессах. В данной работе были изучены морфологические особенности МГК при разных видах эндопротезов и в условиях их протезирования. В результате были выявлены следующие закономерности: появляются многоядерные клетки на 7-е сутки эксперимента, далее происходит увеличение их количества на стандартной площади среза,

размеров, числа ядер и площади, занимаемой этими клетками. Через три недели после оперативного вмешательства происходит снижение данных показателей, что, по всей видимости, связано с окончанием перестройки соединительной ткани и приживлением импланта. Было замечено, что на ранних сроках многоядерные клетки локализуются чаще на нитях эндопротеза, затем между ними и позднее во внутреннем слое сформированной перипротезной капсулы. Необходимо также отметить, что нанесение на эндопротез некоего биологического материала в качестве внешнего слоя (с антимикробным или антибактериальным покрытием), служащим неким «амортизатором», а также одновременное введение АПоТр под эндопротез приводят к появлению в перипротезных тканях морфологически разных видов многоядерных клеток. Относительно происхождения МГК, по результатам проведенного исследования можно с уверенностью примкнуть к числу авторов – приверженцев синцитиальной теории, согласно которой гигантские многоядерные клетки образуются путем слияния нескольких одноядерных клеток.

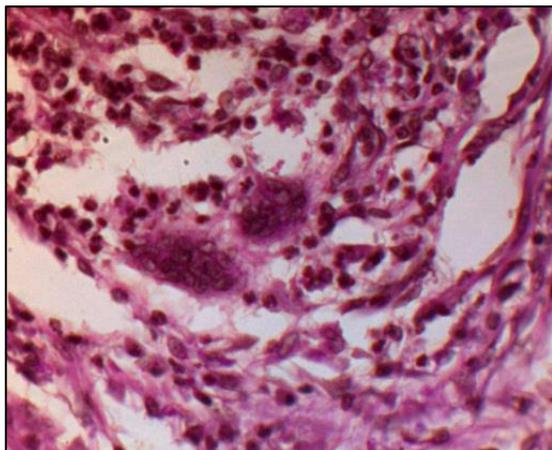


**А**

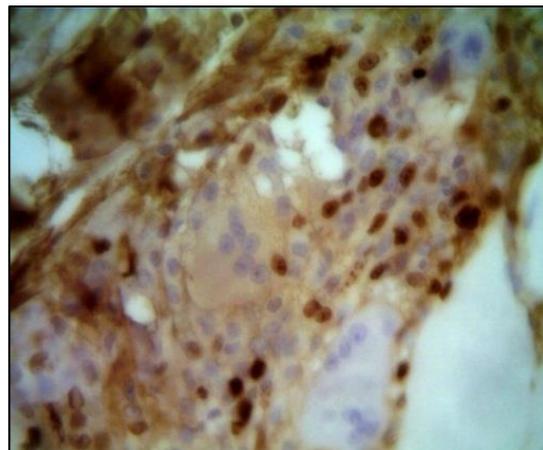


**Б**

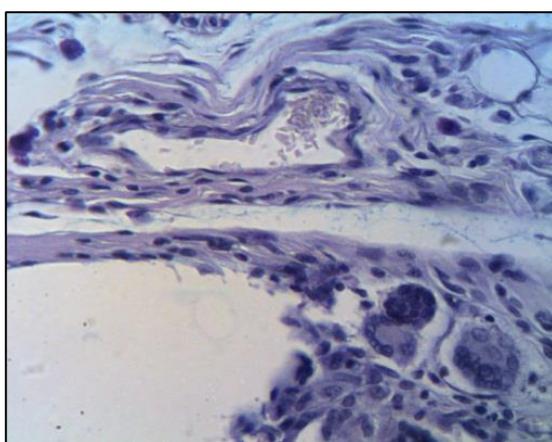
**Рисунок 1** – Микрофотография зоны имплантации эндопротеза «Гинефлекс» на 7-е (А), 14-е (Б) сутки эксперимента. Окрашено гематоксилином и эозином (А). По Маллори (Б). Ув. x400



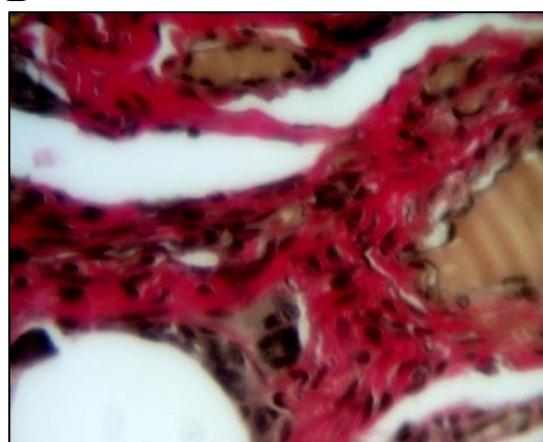
**А**



**Б**



**В**



**Г**

**Рисунок 2** – Микрофотография зоны имплантации эндопротеза «Гинифлекс» с введением АПоТр на 7-е (А), 14-е (Б) и 21-е (В, Г) сутки эксперимента. Окрашено гематоксилином и эозином (А, В). По Ван Гизон (Г). Иммуногистохимическая реакция, DAB (Б). Ув. x400

## Выводы

Выявленные морфофункциональные особенности гигантских многоядерных клеток зависят от физико-химических характеристик эндопротезов, а кажущаяся неравномерность и беспорядочность в локализации многоядерных клеток отражает определенную закономерность в реакции клеточного компонента перипротезной соединительной ткани на разных сроках эксперимента.

## Литература

1. Должиков А.А., Колпаков А.Я., Ярош А.Л., Молчанова А.С., Должикова И.Н. Гигантские клетки инородных тел и тканевые реакции на поверхности имплантатов // *Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье*. – 2017. – № 3. – С. 86-94.
2. Майбородин И.В., Шевела А.И., Баранник М.И., Кузнецова И.В., Майбородина В.И. Некоторые морфологические аспекты имплантации силиконовых материалов в клинике // *Новости хирургии*. – 2013. – № 21-3. – С. 16-22.
3. Майбородин И.В., Шевела А.И., Кузнецова И.В., Баранник М.И., Майбородина В.И. Тканевые реакции на силиконовые материалы в организме // *Архив патологии*. – 2013. – № 4. – С. 28-33.
4. Калмин О.В., Никольский В.И., Федорова М.Г., Титова Е.В., Янгуразова Е.В. Морфологические изменения тканей в зоне операции при имплантации ксеноперикарда и полипропиленовой сетки в разные сроки после хирургического вмешательства // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2012. – № 8-4. – С. 1008–1012.
5. Сурков Н.А., Виссарионов В.А., Заринская А.А. Изучение особенностей тканевых реакций в зоне имплантации различных видов сетчатых эндопротезов. Значение результатов экспериментальных исследований для клинической хирургии // *Герниология*. – 2005. – № 1. – С. 43-47.
6. Мишина Е.С., Затолокина М.А., Нетьга А.А., Климова Л.Г., Жуковский В.А. Реактивные изменения соединительной ткани передней брюшной стенки в раннем послеоперационном периоде при использовании опытных образцов сетчатых эндопротезов с антибактериальным покрытием // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 2-1. Режим доступа: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=18056> (дата обращения: 16.10.2018).

7. Мутова Т.В., Затолокина М.А., Суковатых Б.С. Результаты применения плазмы, обогащенной тромбоцитами, при эндопротезировании передней брюшной стенки // *Современные проблемы науки и образования*. – 2017. – № 6. Режим доступа: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=27192> (дата обращения: 16.10.2018).
8. Brodbeck W.G., Anderson J.M. Giant cell formation and function // *Curr. Opin. Hematol.* – 2009. – Vol. 16(1). – № 53-7. doi: 10.1097/MOH.0b013e32831ac52e.
9. Chang D.T., Colton E., Anderson J.M. Paracrine and juxtacrine lymphocyte enhancement of adherent macrophage and foreign body giant cell activation // *J Biomed. Mater. Res.* – 2009. – № 89(2): DOI: 10.1002/jbm.a.31981.

## References

1. Dolzhikov A.A., Kolpakov A.YA., Yarosh A.L., Molchanova A.S., Dolzhikova I.N. Gigantskie kletki inorodnyh tel i tkanevye reakcii na poverhnosti implantatov [Giant cells of foreign bodies and tissue reactions to the implant surfaces] // *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik Chelovek i ego zdorov'e*. 2017; № 3: P. 86-94.
2. Majborodin I.V., Shevela A.I., Barannik M.I., Kuznecova I.V., Majborodina V.I. Nekotorye morfologicheskie aspekty implantacii silikonovyh materialov v klinike [Some morphological aspects of the implantation of silicone materials in the clinic]. *Novosti hirurgii*. 2013; № 21-3: P. 16-22. [in Russian]
3. Majborodin I.V., Shevela A.I., Kuznecova I.V., Barannik M.I., Majborodina V.I. Tkanevye reakcii na silikonovye materialy v organizme [Tissue reactions to silicone materials in the body]. *Arhiv patologii*. 2013; 4: P. 28-33. [in Russian]
4. Kalmin O.V., Nikol'skij V.I., Fedorova M.G., Titova E.V., Yangurazova E.V. Morfologicheskie izmeneniya tkanej v zone operacii pri implantacii ksenoperikarda i polipropilenovoj setki v raznye sroki posle hirurgicheskogo vmeshatel'stva [Morphological changes of tissues in the area of operation during the implantation of xenopericardium and polypropylene mesh at different times after surgery]. *Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal*. 2012; 8-4: P. 1008–1012. [in Russian]
5. Surkov N.A., Vissarionov V.A., Zarinskaya A. A. Izuchenie osobennostej tkanevyh reakcij v zone implantacii razlichnyh vidov setchatyh ehndoprotezov. Znachenie rezul'tatov ehksperimental'nyh issledovanij dlya klinicheskoy hirurgii [The study of the

- characteristics of tissue reactions in the area of implantation of various types of mesh endoprostheses. The value of the results of experimental studies for clinical surgery]. *Gerniologiya*. 2005; 1: P. 43-47. [in Russian]
6. Mishina E.S., Zatulokina M.A., Netyaga A.A., Klimova L.G., Zhukovskij V.A. Reaktivnye izmeneniya soedinitel'noj tkani perednej bryushnoj stenki v rannem posleoperacionnom periode pri ispol'zovanii opytnyh obrazcov setchatyh ehndoprotezov s antibakterial'nym pokrytiem [Reactive changes in the connective tissue of the anterior abdominal wall in the early postoperative period when using prototypes of mesh endoprostheses with antibacterial coating]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; 2-1. Rezhim dostupa: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=18056> Data obrashcheniya: 16.10.2018. [in Russian]
7. Mutova T.V., Zatulokina M.A., Sukovatyh B.S. Rezul'taty primeneniya plazmy, obogashchennoj trombocitami, pri ehndoprotezirovanii perednej bryushnoj stenki [The results of the use of plasma enriched with platelets in endoprosthesis replacement of the anterior abdominal wall]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; 6. <http://science-education.ru/ru/article/view?id=27192> Data obrashcheniya: 16.10.2018. [in Russian]
8. Brodbeck W.G., Anderson J.M. Giant cell formation and function // *Curr. Opin. Hematol.* – 2009. – Vol. 16(1). – № 53-7. doi: 10.1097/MOH.0b013e32831ac52e.
9. Chang D.T., Colton E., Anderson J.M. Paracrine and juxtacrine lymphocyte enhancement of adherent macrophage and foreign body giant cell activation // *J Biomed. Mater. Res.* – 2009. – № 89(2): DOI: 10.1002/jbm.a.31981.