

## ВПЛИВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЕКСПЛАНТІВ ПЛАЦЕНТИ НА ПРОЯВИ УСКЛАДНЕНЬ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЯХ НА МАТЦІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

<sup>1</sup>Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків)

<sup>2</sup>Харківська медична академія післядипломної освіти (м. Харків)

v.yu.prokopiuk@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота виконана в рамках державної наукової теми Харківської медичної академії післядипломної освіти «Особливості лікування і профілактики патологічних станів у прегравідарний період і в період гестації та шляхи їх корекції» (№ державної реєстрації 0111U003583).

**Вступ.** У 60-80 мільйонів жінок щорічно діагностується непліддя. Розповсюдженою причиною жіночого непліддя є спайковий процес в черевній порожнині з блокуванням маткових труб та виходу яйцеклітини при овуляції [1]. Більшість оперативних втручань в черевній порожнині призводять до формування злук більшого, або меншого ступеню. До факторів тубооваріального непліддя відносять також зниження прохідності та функції маткових труб, які часто виникають після операцій з приводу позаматкової вагітності. В ряді випадків необхідним є розтин маткової труби з подальшим відновленням її цілісності. Неповноцінне відновлення рубця на матці, трубці та формування спайок веде до повторної позаматкової вагітності, непліддю, проблем при виношуванні вагітності [2,3].

В ряді досліджень продемонстровано, що похідні плаценти (клітини, оболонки, експланти) мають позитивний трофічний ефект щодо виразок, дефектів тканини, антифіброзні властивості [4,5]. В наших попередніх дослідженнях було продемонстровано, що кріоконсервовані експланти плаценти (КЕП) мають позитивний трофічний ефект щодо органотипових культур матки [6], стимулюючий ефект щодо матки та яєчника *in vivo* [7]. Можна припустити, що застосування КЕП при операціях на маткових трубах може привести до

більш повного їх відновлення та зниження формування спайок.

Застосування будь-якого біологічного об'єкту в медичній практиці можливо тільки після кріоконсервування, або іншого методу зберігання, яке дозволить транспортувати матеріал від лабораторії до клініки, обстежити його на відсутність інфекції та біосумісність [8].

**Метою роботи** було визначення впливу імплантації кріоконсервованих експлантів плаценти на процес загоєння післяопераційної травми маткових труб.

**Об'єкт і методи дослідження.** В експериментах застосовували 56 самиць щурів лінії Wistar віком 5 міс. з середньою вагою 230 г. Операційну травму матки у експериментальних тварин моделювали шляхом відтворення операції, що виконується при позаматковій вагітності. В фазі еструсу на правому матковому розі робили повздовжній розріз через всі шари, довжиною 1 см на відстані 1 см від яєчника (**рис. 1, А**). Для різання радіохвильовою енергією застосовували електрохірургічний апарат «Надія – 120 РХ» (НДІ Прикладної електроніки, Україна), оскільки при сучасній лапароскопічній хірургії частіше застосовують саме коагуляцію. Розріз ушивали монокрилом 4,0 (**рис. 1, Б**). Профілактику спайкоутворення проводили проти-спайковим гелем з гіалуронатом натрію 0,5% з декаметоксином 0,02% інтраопераційно по 3 мл.

Усі тварини було розділено на 4 групи по 14 тварин у кожній: 1 група – тварини з введенням КЕП через добу після операції з застосуванням профілактики спайкоутворення, 2 група – тварини з введенням КЕП через добу після операції без застосування профілак-

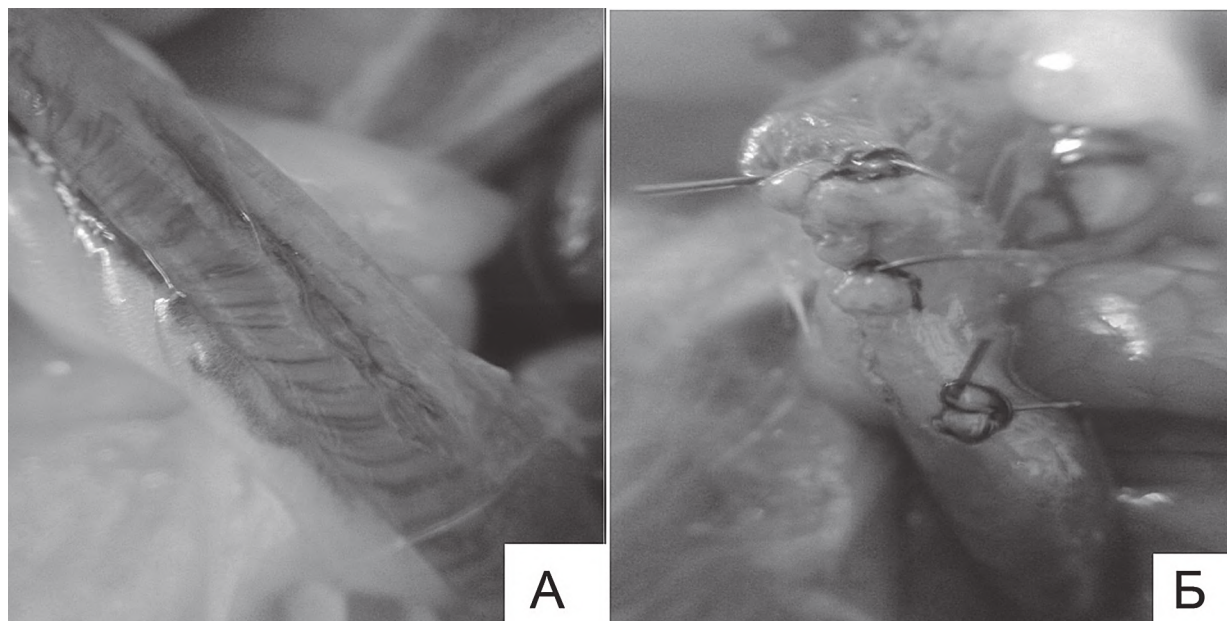


Рис. 1. Моделювання оперативного втручання на маткових трубах. А – проведений розріз, Б – накладені шви.

Розвиток спайкового процесу у піддослідних щурів

Ступінь спайкового процесу	1 група (КЕП, профілактика спайок)		2 група (КЕП, без профілактики спайок)		3 група (профілактика спайок)		4 група (без профілактики спайок та КЕП)	
	n	%	N	%	n	%	N	%
0	9	64,3			10	71,4	–	–
I	5	35,7			4	28,56	–	–
II	–	–			–	–	–	–
III	–	–	7	50	–	–	6	42,86
IV	–	–	7	50	–	–	8	57,14

тики спайкоутворення, 3 – оперовані тварини без КЕП з застосуванням профілактики спайкоутворення, 4 – оперовані тварини без лікування похідними плаценти та без профілактики спайкоутворення. Кріоконсервовані експланти плаценти отримували, кріоконсервували та вводили підшкірно у дозі 70 мг за раніше розробленою методикою [7]. Через 7 діб виводили по 7 тварин з групи з вивченням розвитку у них спайкового

процесу за шкалою 0-IV балів, де 0 ступінь – відсутність злук, I ступінь – поодинокі злуки, II ступінь – численні тонкі злуки в межах матки, що видаляються, III ступінь – численні грубі злуки в межах матки, що не видаляються, IV ступінь – грубі злуки з іншими органами, явища порушення функції кишечника.

Проводили гістологічне дослідження маткових рогів, яєчників з забарвленням гематоксилін-еозином. Надалі проведено спарювання самиць з половозрілими самцями та виведення всіх тварин із експерименту на 18 добу після спарювання з вивченням настання у них вагітності. Оцінювали місце розрізу, репродуктивні показники.

Для обробки зображень застосовували програмне забезпечення TourView V 3.7. (Hangzhou TourTek Photonics Co. Ltd, Hangzhou, China), ImageJ V.1.48. (National Institutes of Health, USA). Для отримання статистично вірогідних висновків застосовували U критерій Мана-Уїтні, критерій Краскела-Уолліса з за-

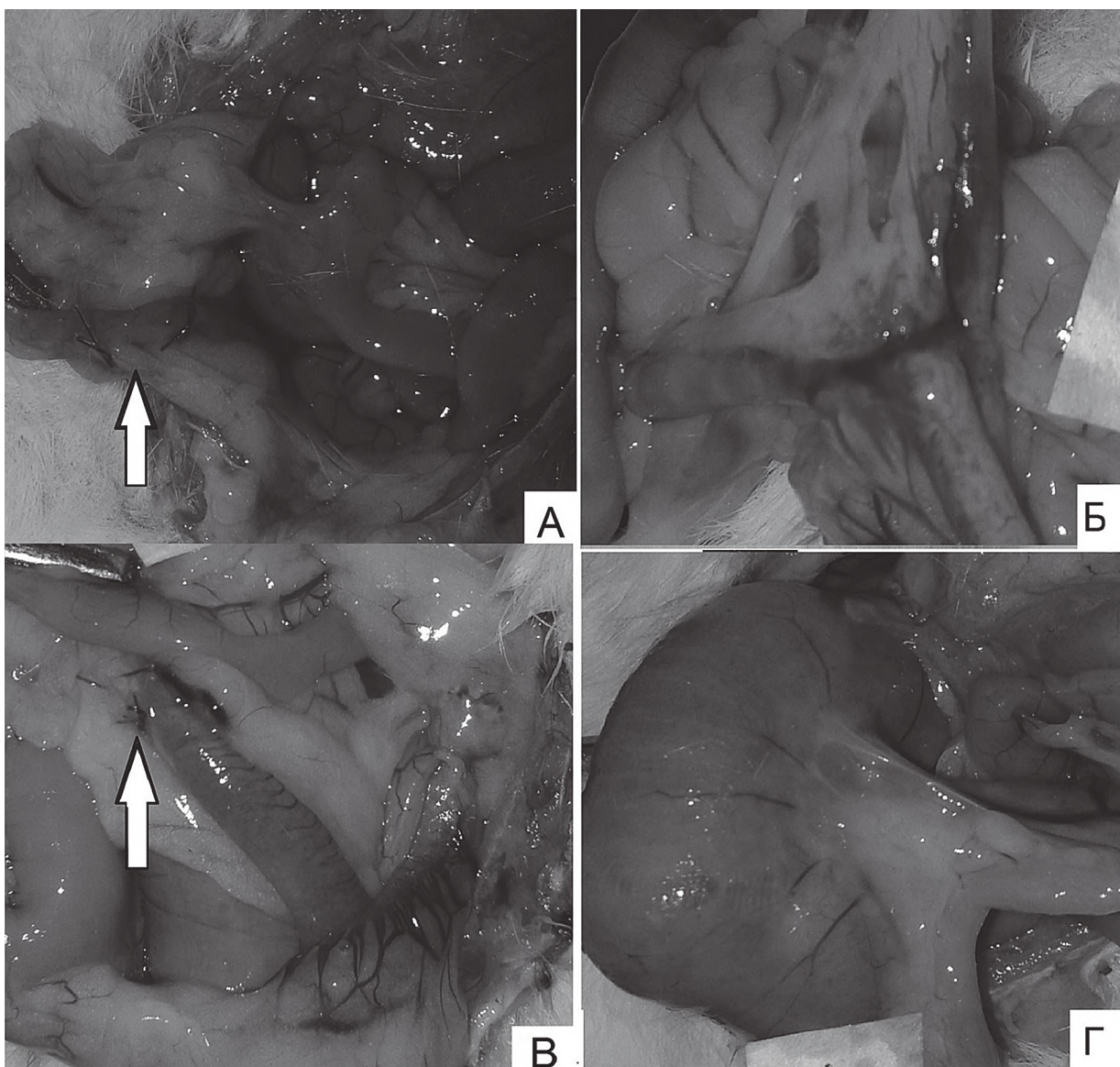


Рис. 2. Макроскопічна картина органів черевної порожнини щурів на 7-у добу: А – після введення КЕП та гелю, Б – після введення КЕП, В – оперовані з профілактикою спайкоутворення, Г – оперовані без лікування та профілактики спайкоутворення. Місця операції з залишками шовного матеріалу позначені стрілками.

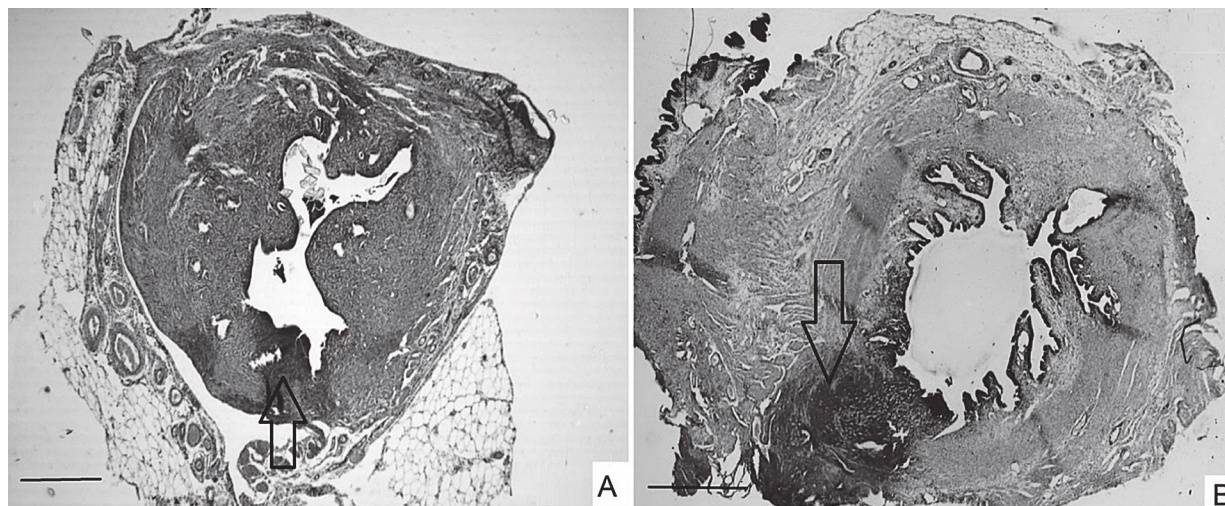


Рис. 3. Мікроскопічна оцінка відновлення оперованих рогів матки. А – повноцінний рубець у тварини після КЕП, Б – фіброзний рубець без лікування похідними плаценти. Стрілками позначені місця операції. Забарвлення гематоксін-еозином. Масштабні лінійки 100 мкм.

стосуванням програмного забезпечення Past V. 3.15 (University of Oslo, Norway).

Проведення експериментів на лабораторних тваринах проводилося відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених VI конгресом з біоетики (Київ, 2016) і узгоджених з положенням «Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Плаценту отримували з інформованої згоди жінок на добровільне її надання для наукових досліджень.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Після проведення оперативного втручання на 7 добу після у більшості самок з введенням КЕП та протиспайкового гелю (рис 2, А) мали місце поодинокі спайки, підпаяність матки до мезосальпінгсу, брижі кишковика але без «запаювання» та вільних кінців маточних рогів, що можна трактувати, як спайковий процес I ступеню.

У щурів, що отримували КЕП без профілактики спайкоутворення було виявлено спайковий процес III-IV ступенів, з підпаяванням кишковика, мезосальпінксу (рис 2, Б). При цьому вивільнити матку без травм не вдавалося.

У щурів, які не отримували лікування КЕП, але яким проводили профілактику спайкоутворення протиспайковим гелем (рис 2, В) спостерігали поодинокі формування спайок, без конгломератів та запаювання кінців труб.

При дослідженні аналогічних процесів у тварин, що не отримували КЕП та протиспайкової профілактики, спостерігали виражений спайковий процес, формування конгломератів, роздування кишковика вище спайок, що свідчить про звуження просвіту та наявність часткової кишкової непрохідності (рис 2, Г).

Описані зміни, об'єднані з даними отриманими після виведення всіх тварин з експерименту, представлені в таблиці 1, з якої видно, що тварини які отримували протиспайкову профілактику мали спайковий процес – 0 – I ступеню, а тварини після операції без застосування протиспайково-

го бар'єру – III – IV ступінь спайкового процесу. Тобто на ступінь спайкового процесу впливала тільки протиспайкова профілактика, але не КЕП.

При гістологічному дослідженні місця операції в групах після застосування КЕП спостерігали формування рихлого рубця та тенденцію до відновлення шарів, чітко розділення ендометрію міометрію та серози. Спостерігали також гіперплазію ендометрію, залози в рубці не були відновлені (рис 3, А). У тварин після операції без застосування КЕП виявляли формування більш грубого фіброзного рубця, але без гіперплазії ендометрію (рис 3, Б).

При аналізі репродуктивних показників продемонстровано, що при застосуванні КЕП та протиспайкової профілактики спостерігається збільшення кількості жовтих тіл та плодів, що може свідчити про стимуляцію яєчника (табл. 2, рис. 4, А). Після застосування КЕП без профілактики спайкоутворення кількість жовтих тіл підвищено, але кількість плодів зменшено, що може бути пояснено наявністю спайкового процесу.

В групі оперованих без профілактики спайкового процесу спостерігали зниження кількості плодів, вірогідно через спайкоутворення. Спостерігали відсутність плодів на боці операції (рис. 4, Б), у однієї тварини спостерігали пірометру на місці операції (рис. 4, В). У двох тварин третьої та четвертої групи плодів нижче місця операції не було, що свідчить про звужування рогів матки при формуванні рубця та спайкового процесу (рис. 4, Г).

Аналіз отриманих даних свідчить, що підшкірна імплантація кріоконсервованих експлантів плаценти після хірургічного втручання на репродуктивних орга-

Таблиця 2.

**Показники кількості плодів та жовтих тіл у піддослідних тварин (M ± m)**

Показник	Група			
	1 група (КЕП, профілактика спайок)	2 група (КЕП, без профілактики спайок)	3 група (профілактика спайок)	4 група (без профілактики спайок та КЕП)
Кількість плодів	11,0 ± 2,0*	6,2 ± 0,3*	9,3 ± 1,2*	2,1 ± 0,5
Кількість жовтих тіл	15,0 ± 1,8*	16,1 ± 1,6*	10,6 ± 0,8	9,2 ± 0,9

Примітка: \* – вірогідність різниці з 4 групою p < 0,05.

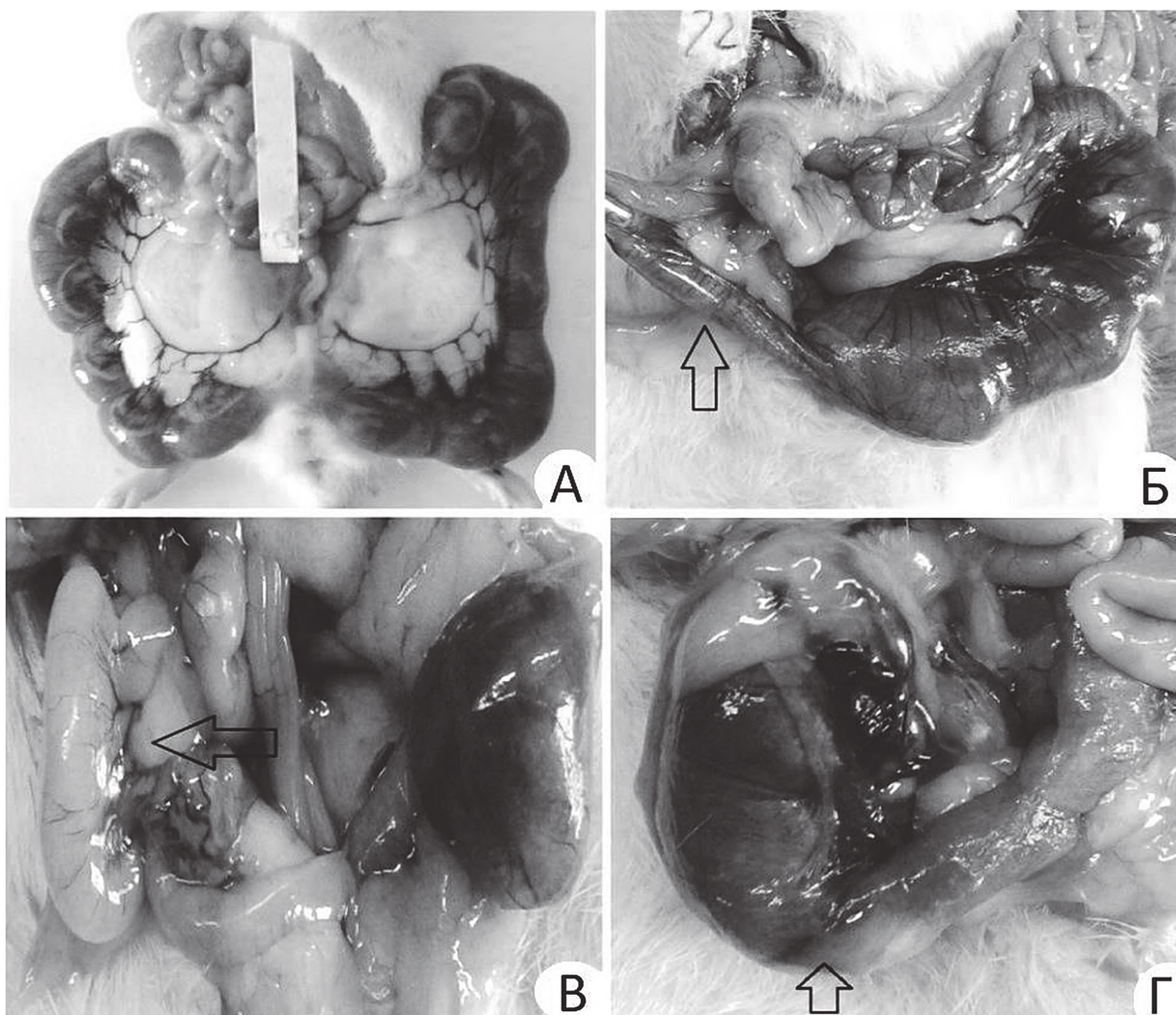


Рис. 4. Репродуктивні органи експериментальних тварин. А – варіант нормальної вагітності в обох маткових рогах, Б – відсутність плодів у розі матки на боці операції у тварини з конгломератом в черевній порожнині (показано стрілкою), В – піометра на боці операції (показано стрілкою), Г – відсутність плодів нижче місця операції внаслідок звуження маткового рогу (місце звуження показане стрілкою).

нах позитивно впливає на перебіг післяопераційного періоду за рахунок обмеження альтеративних реакцій і стимуляції регенеративно-репараційних процесів [4]. Протизапальний ефект введення КЕП може бути пояснений дією комплексу плацентарних сполук, в першу чергу гормонів, факторів росту, імуномодуляторів, що генетично детерміновані на ініціацію захисних і відновлювальних процесів в організмі [5].

**Висновки.** Таким чином, проведене дослідження дозволяє стверджувати, що застосування кріоконсер-

вованих експлантів плаценти стимулює репарацію матки лабораторних тварин, забезпечує більш повне відновлення її стінки, стимулює функцію яєчників, не впливає на формування спайок в черевній порожнині.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується дослідження ефективності інтраопераційного застосування похідних плаценти з метою розробки інноваційних методів відновлення репродуктивного здоров'я жінки.

### Література

1. Margaux Becker V, Silver S, Seufert R, Muensterer OJ The association of appendectomy, adhesions, tubal pathology, and female infertility. *JLS*. 2019;23(1):e2018.00099. DOI: 10.4293/JLS.2018.00099
2. Zarinara A, Zeraati H, Kamali K, Mohammad K, Shahnazari P, Akhondi MM. Models predicting success of infertility treatment: a systematic review. *J Reprod Infertil*. 2016;17(2):68-81.
3. Calcagno A, Londero AP, Haag T, Driul L, Bertozzi S, Grassi T, et al. Surgical treatment of ectopic pregnancy associated with predisposing factors of tuboperitoneal infertility. *Minim Invasive Ther Allied Technol*. 2013 Apr;22(2):97-103. DOI: 10.3109/13645706.2012.708346
4. Pogozhykh O, Prokopyuk V, Figueiredo C, Pogozhykh D. Placenta and placental derivatives in regenerative therapies: experimental studies, history, and prospects. *Stem Cells International*. 2018;2018:14. DOI: 10.1155/2018/4837930
5. Silini AR, Cargnoni A, Magatti M, Pianta S, Parolini O. The long path of human placenta, and its derivatives, in regenerative medicine. *Front Bioeng Biotechnol*. 2015 Oct 19;3:162. DOI: 10.3389/fbioe.2015.00162
6. Prokopiuk VYu. Influence of media conditioned by cryopreserved and fresh placental explants and cells on murine uterine and ovarian organotypic cultures. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2018;28(2):139-50.

7. Prokopyuk VYu, Grischenko OV, Prokopyuk OV, Shevchenko NO, Falko OV, Storchak AV, et al. Effect of cryopreserved placental explants on female reproductive system under normal and pathological conditions (experimental study). *Probl Cryobiol Cryomed*. 2017;28(3):250-65. DOI: <https://doi.org/10.15407%2Fcryo27.03.250>
8. Giwa S, Lewis JK, Alvarez L, Langer R, Roth AE, Church GM, et al. The promise of organ and tissue preservation to transform medicine. *Nat Biotechnol*. 2017 Jun 7;35(6):530-42. DOI: 10.1038/nbt.3889

### ВПЛИВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЕКСПЛАНТІВ ПЛАЦЕНТИ НА ПРОЯВИ УСКЛАДНЕНЬ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЙ НА МАТЦІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Прокопюк В. Ю., Пасієшвілі Н. М., Прокопюк О. В., Карпенко В. Г., Логінова О. О.

**Резюме.** Розповсюдженою причиною жіночого непліддя є спайковий процес та неповноцінність маткових труб після оперативного лікування. В ряді досліджень продемонстровано, що похідні плаценти (клітини, оболонки, експланти) мають позитивний трофічний ефект щодо виразок, дефектів тканини, антифіброзні властивості. Метою роботи було визначення впливу кріоконсервованих експлантів плаценти на процес загоєння післяопераційної травми маткових труб. Операційну травму моделювали на щурах лінії Wistar. Виявлено, що експланти плаценти забезпечують більш повне відновлення стінки матки, стимулюють функцію яєчника та не впливають на формування спайок. Для поліпшення прогнозу при гінекологічних операціях доцільно застосовувати одночасно кріоконсервовані експланти плаценти та протиспайкову профілактику.

**Ключові слова:** операція, маткова труба, плацента, кріоконсервування, щури, непліддя.

### ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЭКСПЛАНТОВ ПЛАЦЕНТЫ НА ПРОЯВЛЕНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ НА МАТКЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Прокопюк В. Ю., Пасиешвили Н. М., Прокопюк А. В., Карпенко В. Г., Логинова О. А.

**Резюме.** Распространенной причиной женского бесплодия является спаечный процесс и неполноценность маточных труб после оперативного лечения. В ряде исследований показано, что производные плаценты (клетки, оболочки, экспланты) имеют положительный трофический эффект в отношении язв, дефектов ткани, антифиброзные свойства. Целью работы было определение влияния кріоконсервированных эксплантов плаценты на процесс заживления послеоперационной травмы маточных труб. Операционную травму моделировали на крысах линии Wistar. Выявлено, что экспланты плаценты обеспечивают более полное восстановление стенки матки, стимулируют функцию яичника и не влияют на формирование спаек. Для улучшения прогноза при гинекологических операциях целесообразно применять одновременно кріоконсервированные экспланты плаценты и противоспаечную профилактику.

**Ключевые слова:** операция, маточная труба, плацента, кріоконсервирование, крысы, бесплодие.

### INFLUENCE OF CRYOPRESERVED PLACENTAL EXPLANTS ON COMPLICATIONS OF UTERUS OPERATIONS IN THE EXPERIMENT

Prokopyuk V. Yu., Pasiyeshvili N. M., Prokopyuk O. V., Karpenko V. G., Loginova O. O.

**Abstract.** The common cause of female infertility is the adhesion process and the fallopian tubes dysfunction after surgical treatment. Several studies have shown that the placental derivatives (cells, membranes, explants) have a positive trophic effect on ulcers, tissue defects, and anti-fibrotic properties. In our previous studies have shown, that cryopreserved placental experiments (CPE) have a positive trophic effect on organotype uterus cultures, stimulating the effect of the uterus and ovary *in vivo*.

*The aim of the work* was to determine the effect of cryopreserved placental explants on the fallopian tubes post-operative healing.

Operational injury was modeled on Wistar rats. All animals were divided into 4 groups of 14 animals in each: 1 group – animals with the introduction of CPE in a day after surgery with the use of prevention of adhesion, 2 group – animals with the introduction of CPE without prevention of adhesion, 3 – operated animals without CPE with adhesions prevention, 4 – operated animals without CPE and adhesions prevention. Prevention of was done by anti-adhesion gel, contained sodium hyaluronate.

**Results.** It was found that animals that received anti-adhesion prophylaxis had adhesion process – 0 – I degree, animals after surgery without application of antiadhesion barrier – III – IV degree of adhesion process. Thereby, the degree of adhesion process depends only on anti-adhesion gel, but not on CPE.

A histological examination showed that application of CPE, leads to formation of a loose scar and the tendency to the uterus layers restore, a clear separation of the endometrium, myometrium and serous were observed. Endometrial hyperplasia was also observed the glands were not regenerated. In groups, after the operation without CPE, the formation of a fibrous scar and no endometrial hyperplasia was observed.

In the analysis of reproductive parameters, it has been shown that after CPR and anti-adhesion gel application, an increase in the number of yellow bodies and fetuses was observed. After CPR without anti-adhesion gel application, the number of yellow bodies increased, but the number of fetuses decreased, what can be explained by adhesion process.

**Conclusions.** The placental derivatives application to improve the prognosis in gynecological operations has some specifics. Firstly, CPR stimulate uterine reparation, provide a more complete restoration of the uterus, stimulate the ovarian function. Secondly, the cryopreserved explants application does not prevent the adhesions formation in the abdominal cavity. To improve the prognosis in gynecological operations, it is expedient to use cryopreserved placenta experiments, for restoring the tube wall and anti-adhesion prophylaxis.

**Key words:** surgery, uterine tube, placenta, cryopreservation, rats, infertility.

Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 05.06.2019 року