

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИНАМИКИ ТКАНЕВОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ПЛАСТИКЕ МОДЕЛИРОВАННОГО ДЕФЕКТА БРЮШНОЙ СТЕНКИ ПОЛИПРОПИЛЕНОВОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ СЕТКОЙ С ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

¹Военно-медицинский факультет в УО

«Белорусский государственный медицинский университет»,

²ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Проведен сравнительный анализ динамики морфологических проявлений тканевой реакции при пластике моделированного дефекта брюшной стенки у лабораторного животного полипропиленовой хирургической сеткой изолированно и в сочетании с трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани (МСК ЖТ), импрегнированных в желатиновый матрикс. Установлен характер комплексного влияния МСК ЖТ в составе многокомпонентного трансплантата, который включал в себя: нивелирование негативного воздействия полипропиленовой хирургической сетки, устранение процесса хронического воспаления, формирование условий для естественной репарации с активацией ангиогенеза и синтезом полноценной коллагеновой ткани.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани, морфология, соединительная ткань, ангиогенез, фибробласты

V.G. Bogdan¹, I.A. Shved²

QUANTITATIVE CHARACTERISTICS DYNAMICS OF TISSUE REACTION OF IN PLASTIC SIMULATED DEFECT ABDOMINAL WALL POLYPROPYLENE SURGICAL MESH WITH TRANSPLANTATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS FROM ADIPOSE TISSUE

The comparative analysis of dynamics of morphological changes of tissue reaction is carried out at a plastic in laboratory animals with model polished postoperative hernias by a surgical meshes from polypropylene separately and in a combination to transplantation of mesenchymal stem cells from adipose tissue (MSC AT), included in structure of gelatinous matrix. Nature of complex influence MSC AT as a part of a multicomponent graft which included is established: leveling of negative impact of a surgical meshes from polypropylene, elimination of process of a chronic inflammation, formation of conditions for a natural reparation with activation of an angiogenesis and synthesis of a high-grade collagen tissue.

Key words: mesenchymal stem cells from adipose tissue, morphology, connecting tissue, angiogenesis, fibroblasts

Альтернативной стратегией по отношению к использованию синтетических имплантатов, которые обладают определенными ограничениями в практическом применении, является активное развитие тканевой инженерии.

Предполагаемая концепция для практической реализации данного инновационного подхода сводится к следующим положениям: разработка новых способов реконструкции без использования синтетических материалов, снижение активности и уменьшение длительности воспалительной реакции при аллопротезировании, стимуляция репаративных процессов и синтез полноценной соединительной ткани в зоне герниопластики.

Перспективным направлением является создание композиционных биологических трансплантатов, состоящих из опорной (сетка) и (или) внеклеточной матрицы с включением алло- или аутогенных клеток, культивированных *in vitro* с возможностью воздействия на основные патологические звенья [1, 2, 3].

В многочисленных экспериментальных исследованиях оценена возможность покрытия культурами фибробластов различных вариантов полипропиленовых сеток. Доказано, что трансплантация аллогенных эмбриональных фибробластов в зону пластики изолированно и при имплантации с сетками приводит к ускорению купирования воспалительной реакции, потенцирует процессы регенерации путем стимулирования роста, активности и дифференцировки собственных фибробластов организма, оказывает модифицирующий эффект на динамику образования коллагена I типа и структуру рубца, делая его сходным с апоневрозом [2, 4-14].

Учитывая этические проблемы использования эмбриональных тканей, а также опасность их применения из-за высокого риска малигнизации и инфицирования вирусными и иными агентами, развития иммунных осложнений и реакции отторжения, клетки постнатального происхождения рассматриваются как наиболее адекватный материал для клеточной трансплантации.

В литературных источниках имеются единичные работы, в которых в качестве клеточной составляющей использовались мезенхимальные стволовые (стромальные) клетки из костного мозга, с морфологической картиной стимуляции ангиогенеза и увеличения общего количества коллагена в тканях в передней брюшной стенке при трансплантации лабораторным животным [15].

По нашему мнению, наиболее востребованными для этой цели являются мезенхимальные стволовые

(стромальные) клетки, выделенные из жировой ткани (МСК ЖТ), к дополнительным преимуществам которых можно отнести: малоинвазивный способ забора материала, большой выход клеток при выделении, высокий пролиферативный потенциал, морфологическое и фенотипическое единство с культурами фибробластов, способность выступать в роли антиген-презентирующих клеток и инициировать развитие специфических иммунных реакций, экспрессия элементов внеклеточного матрикса и ростовых факторов [16, 18].

Вместе с тем, остаются не изученными вопросы влияния МСК ЖТ в составе многокомпонентного трансплантата на окружающие ткани при пластике дефектов брюшной стенки в первую очередь в экспериментальной модели. Результаты наших исследований *in vitro* по комплексной оценке свойств клеток фибропластического дифферона с выбором клеточной составляющей и внеклеточного матрикса, разработкой технологии получения многокомпонентного биологического трансплантата, являются необходимым обоснованием для проведения анализа динамики изменения морфологических показателей тканевой реакции при использовании МСК ЖТ в тканевой инженерии при пластике моделированных дефектов в эксперименте [13, 17-19].

Цель исследования: провести сравнительный анализ динамики морфологических проявлений тканевой реакции при пластике моделированного дефекта брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой изолированно и в сочетании с трансплантацией МСК ЖТ, импрегнированных в желатиновый матрикс.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 70 белых рандомбредных крысах-самцах, содержащихся на стандартном пищевом рационе в условиях вивария ЦНИЛ БелМАПО. В ходе проведения эксперимента руководствовались приказом Минвуза СССР № 742 от 13.11.1984 года «Об утверждении правил работ с использованием экспериментальных животных», «Правилами работы с экспериментальными животными», требованиями, регламентирующими работу с экспериментальными животными, а также стандартами American Heart Association's «Guidelines for the Use of Animal in Reserch» и Guide for the core and Use of Laboratory Animals (National Academy Press, Revised, 1996) [20].

Для оценки в эксперименте морфологического состояния тканей при имплантации различных по составу хирургических сеток, применяли разработанный способ моделирования послеоперационной грыжи у лаборатор-

ного животного (патент РБ на изобретение № 15612, авторы: Богдан В.Г., Толстов Д.А.). Грыжевое выпячивание в области операционного вмешательства образовывалось на 14 сутки после операции.

В процессе моделирования послеоперационного дефекта брюшной стенки выполняли забор жировой ткани (фрагмент большого сальника) с последующим выделением и культивированием МСК ЖТ [16].

Методом простой рандомизации были сформированы две группы по 35 лабораторных животных в каждой без достоверных отличий по весу и возрасту.

В основной группе (группа 1) проведена пластика дефекта передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сетки «Эргомэш» (Ergon Est, Республика Беларусь) с трехмерным желатиновым гелем с МСК ЖТ в концентрации $1,5 \times 10^5 / 300$ мкл.

В группе сравнения (группа 2) пластика дефекта передней брюшной стенки выполнялась только полипропиленовой хирургической сеткой.

У всех животных трансплантат располагали между мышечно-апоневротическим слоем и париетальной брюшиной.

Морфологическое исследование тканей передней брюшной стенки проводилось на материале, полученном при выведении из эксперимента лабораторных животных на 3, 7, 14, 28, 60 сутки после выполнения пластики.

Материал фиксировали в нейтральном 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, MSB. Изучение препаратов проводили с помощью микроскопа «Olimpus CX-41» при различном увеличении. Микрофотографии изготавливали с применением фотокамеры-приставки «Leica Qwin DC 200».

Морфологические изменения тканей передней брюшной стенки оценивали по 16 признакам: инкапсуляция сетки и ячеек, констрикция ячеек сетки, выпадение фибрина, воспаление, неоангиогенез, колагенизация, гистиоцитарные изменения (грануляционная и фиброзная ткань) и клеточный состав в области трансплантации (макрофаги, фибробласты, многоядерные гигантские клетки инородных тел (МГКИТ), гранулемы МГКИТ, эпителиоидные клетки), степень редукции (трансформации) трансплантированных МСК ЖТ и резорбция геля. Качественные характеристики динамики тканевой реакции анализировали, используя полуколичественный (балльный) метод с определением степени выраженности (интенсивность/распространенность) признака следующим образом: отсутствие признака – 0 баллов, минимальная степень – 0,5 балла, слабая – 1 балл, умеренная – 2 балла, выраженная – 3 балла.

Статистическую обработку данных осуществляли с применением прикладного программного пакета «STATISTICA 6,0». Результаты представлены в формате Me (25-й; 75-й процентиля). Для сравнения динамики изменения показателя в исследуемых группах использовали критерий Уилкоксона для парных сравнений (Wilcoxon matched pairs test). При сравнении показателей в независимых группах применяли U тест Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test). Различия считали достоверными при $p < 0,05$ [21].

Результаты и обсуждение

Динамика изменения гистологической картины в тка-

нях передней брюшной стенки при аллопластике дефекта изолированно полипропиленовой хирургической сеткой и в сочетании с трехмерным желатиновым гелем с МСК ЖТ складывалась из ряда характерных признаков, представленных в таблице.

Так, на 3 сутки наблюдения по ходу имплантированной сетки и между её ячейками определялась объемная полоса выпота из мелко сетчатого фибрина (3 (3-3) балла) в толще которого присутствовали многочисленные эритроциты, поодиночке расположенные мононуклеары, единичные плазматические клетки и сегментоядерные лейкоциты (СЯЛ). Выявлены минимальные признаки сегментарной инкапсуляции сетки (0,5 (0,5-0,5) баллов). Слой фибрина был ограничен неравномерной узкой полосой рыхлой незрелой грануляционной ткани (2 (2-2) балла) с минимальной пролиферацией фибробластов до уровня 0,25 (0-0,5) баллов, умеренно выраженным очаговым серозно-продуктивным воспалением в 1 (1-1) балл с малочисленными полнокровными капиллярами и обилием резко расширенных мелких и средних венул. Состав воспалительного инфильтрата представлен макрофагами (1 (0,5-1) балл), гистиоцитами и плазматическими клетками. На границе с мышцами, выявлены проявления начинающегося неоангиогенеза, оцененные в 0,5 (0-0,5) балла. В мышечной ткани присутствовал резкий отек межмышечной стромы, минимальное серозное воспаление, дистрофические и контрактурные изменения миоцитов, обилие полнокровных капилляров и эктазированных венул (мелких и среднего диаметра). В просвете расширенных венул – агрегация эритроцитов, скопления клеток лимфоидного ряда, сепарация плазмы (рис.1).

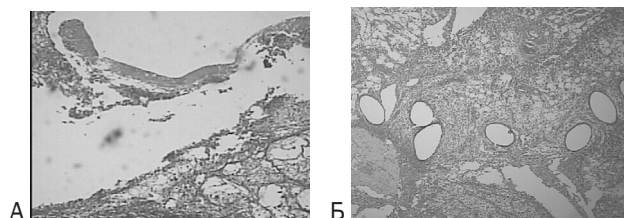


Рис. 1. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой, 3 сутки; А – окраска MSB, $\times 50$, Б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 50$

В препаратах основной группы к этому времени на всем протяжении сетчатого имплантата располагалась объемная бледно-серого цвета полоса бесструктурного геля с очагами крупноячеистого лизиса и сохранением в виде глыбок и глобулей до 0,5 (0,5-0,5) баллов, который маскировал большую часть ячеек сетки, с распределенными по всему объему многочисленными мелкими округлыми недифференцированными клетками с компактным ядром без цитоплазмы, расцененными нами как МСК ЖТ. В толще гелевой структуры находились единичные полиморфные объемные полости, не имеющие четко очерченной стенки с немногочисленными ($p < 0,05$) очагами сетчатого фибрина (0,5 (0,5-1) балла), единичными эритроцитами, большим по сравнению с группой сравнения ($p < 0,05$) количеством полиморфного вида макрофагов до 0,5 (0-0,5) баллов, СЯЛ. Между глобулей геля располагались сформированные тонкие тяжи воло-

Оригинальные научные публикации

кон с цепочками незрелых фибробластов (0,5 (0,5-0,5) баллов). МСК ЖТ были распределены неравномерно и кучно, в основном, по краям визуализируемых ячеек хирургической сетки в виде цепочек, с формированием фибробластов (0,5 (0,5-0,5) баллов) в межглобулярных скоплениях стволовых клеток, без инициации инкапсуляции, как ячеек, так и всей сетки в целом. Перифокально имплантированной сетки и во внутреннем (надбрюшинном) слое мышечной ткани выявлена узкая полоска рыхлой грануляционной ткани с минимально выраженным относительно группы сравнения ($p < 0,05$) серозным воспалением в 0,25 (0-0,5) балла, обилием округлых не дифференцированных клеток и достоверно ($p < 0,05$) более выраженными процессами неоангиогенеза (1 (0,5-1) балл) в виде множества «точечных» капилляров. В мышечной ткани брюшной стенке в области трансплантата присутствовал отек соединительнотканной стромы, пролиферация фибробластов, обилие расширенных и полнокровных капилляров и многочисленные мелкие гиперхромные недифференцированные клетки (рис 2).

По всей толще геля и в зоне ячеек сетки в обеих группах признаков коллагенизации отмечено не было.

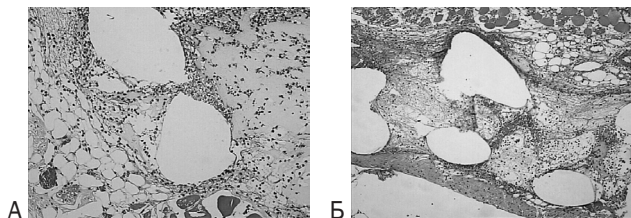


Рис. 2. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой с МСК ЖТ в желатиновом матриксе, 3 сутки; А – окраска MSB, $\times 200$, Б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

На 7 сутки ткань в зоне полипропиленовой сетки (группа 2) имела весьма неоднородную структуру (рис. 3). В сравнении с 3 сутками на обширных участках отмечалась начинающаяся объемная инкапсуляция ячеек сетки (1 (1-1) балл) с минимальным ($p < 0,05$) распространением фибрина до уровня 0,5 (0,5-1) балла, увеличением ($p < 0,05$) числа фибробластов до 0,5 (0,5-1) балла, формированием с нарастающей динамикой ($p < 0,05$) тяжей незрелой грануляционной ткани (3 (2-3) балла), окаймляющих ячейки и растущих в виде спикул в просвет отдельных из них, без признаков коллагенизации. На всем протяжении трансплантата, перифокально, прослеживалась аналогичная картина с активизацией ($p < 0,05$) процессов инкапсуляции всей сетки (2 (1-2) балла) в сочетании с прогрессирующим ($p < 0,05$) умеренным диффузным серозно-продуктивным воспалением в 2 (1-2) балла, накоплением ($p < 0,05$) макрофагов (1 (1-2) балл), моноцитов, гистиоцитов, без прогрессирования ($p > 0,05$) неоангиогенеза (0,5 (0,5-0,5) балла). На внутренней поверхности большинства ячеек сетки (до 75%) отмечены скопления МГКИТ (2 (1-2) балла), totally загруженных фибрином, и единичные эпителиоидные клетки (0,5 (0-0,5) баллов). По периферии сетки - формирование гранул из МГКИТ (0,5 (0,5-1) баллов). В прилежащих мышцах отмечалась распространенная атрофия мышечных волокон и отдельных миоцитов с контрактурными изменениями и замещением их рыхлой волокнистой тканью.

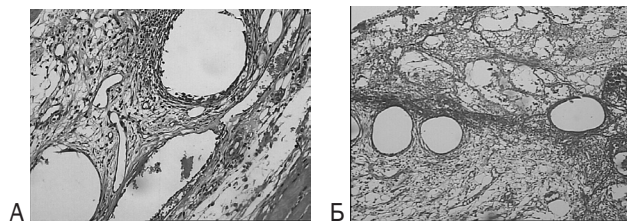


Рис. 3. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой, 7 сутки; А – окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$, Б – окраска MSB, $\times 100$

Изменения гистологической структуры препаратов в группе 1 на **7 сутки** наблюдения представлены на рис. 4. На фоне продолжающейся активной ($p < 0,05$) резорбции геля до 1 (0,5-1) балла, отмечена начинающаяся редукция МСК до 0,5 (0,5-1) балла с их трансформацией предположительно в предшественники фибробластов и макрофаги, без очагов сетевидного фибрина и признаков продуктивного воспаления. На всем протяжении имплантированного материала присутствовала равномерная инкапсуляция как ячеек (1 (0,5-1) балл), так и всей сетки ($p < 0,05$) на границе с мышцами (1 (0,5-1) балл), но с меньшей, чем в группе сравнения интенсивностью. Прогрессирование распространения ($p < 0,05$) зреющей грануляционной клеточно-волокнистой ткани до 1 (0,5-1) балла не достигало ($p < 0,05$) уровня контроля, при этом увеличенное ($p < 0,05$) количество фибробластов до 1 (1-2) балла превышало ($p < 0,05$), а макрофагов до 1 (0,5-1) балла было меньше ($p < 0,05$) значений сравниваемых показателей. В отличие от группы контроля, между ячейками сетки располагались отдельные глобулы геля с разрастанием в их толще тонких тяжиков фиброзной ткани (0,5 (0-0,5) балла) и симпласты эпителиоидных клеток (0,5 (0-0,5) балла). По всей толще геля и сетки происходило интенсивное формирование многоклеточной тонковолокнистой ткани с умеренной коллагенизацией до уровня 1 (0,5-1) балла. Локальное влияние МСК ЖТ приводило к прогрессированию ($p < 0,05$) ангиогенеза в 1,5 (1-2) балла и уменьшению ($p < 0,05$) числа МГКИТ (по 2-3 клетки по всей площади сетки до 0,5 (0-0,5) баллов), относительно группы сравнения.

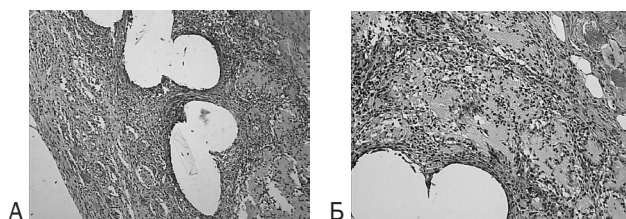


Рис. 4. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой с МСК ЖТ в желатиновом матриксе, 7 сутки; А – окраска MSB, $\times 200$, Б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

На 14 сутки в зоне имплантированной нерассасывающейся сетки (группа 1) определялась умеренно выраженная ($p > 0,05$) инкапсуляция ячеек (1 (1-1) балл), с полным рассасыванием фибриновых наложений, объемные очаги ($p > 0,05$) зреющей грануляционной ткани (2,5 (2-3) балла) с гомогенизацией межклеточного вещества и зонами вновь ($p > 0,05$) сформированных полнокровных капилляров в 0,75 (0,5-1) балла. В ячейках

сетки по внутренней поверхности и перифокально находились экзостозные тонкие остроконечные и объемные выросты фиброзной ткани, с многочисленными ($p > 0,05$) гнездами МГКИТ (2 (2-2) балла), тотально загруженные фибрином, с начинающейся констрикцией и деформацией перегородок ячеек (0,5 (0,5-0,5) балла). На границе с мышцами на всем протяжении сетки отмечена обширная ($p < 0,05$) полоса зрелой малоклеточной соединительной ткани (прогрессирующая ($p < 0,05$) инкапсуляция сетки в 3 (3-3) балла) с формированием ($p > 0,05$) фибробластов (0,75 (0,5-1) балла), их предшественников, отсутствием динамики ($p > 0,05$) в проявлениях ангиогенеза (0,75 (0,5-1) балла) и снижении активности ($p > 0,05$) продуктивного диффузно-очагового воспаления до 1 (1-2) балла, которое находилось в основном в грануляционной ткани со снижением ($p < 0,05$) количества макрофагов до 0,5 (0,5-0,5) баллов, гистиоцитов и мононуклеаров. В прилежащих мышцах: очаги атрофии мышечных волокон и миоцитов, замещение их зреющей грануляционной тканью с очагами продуктивного воспаления, отек межмышечных соединительнотканых прослоек, скудная пролиферация фибробластов минимальный серозный межклеточный миозит (рис. 5).

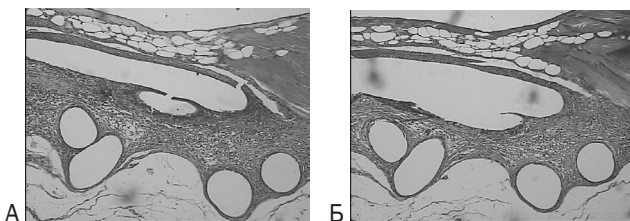


Рис. 5. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой, 14 сутки; А – окраска MSB, $\times 100$, Б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

В этот же период наблюдения в группе 1 с МСК ЖТ (рис. 6) продолжались ($p < 0,05$) процессы резорбции геля и цитологической элиминации с трансформацией трансплантированных МСК ЖТ до 1 (1-2) балла в предшественники фибробластов, с увеличением ($p < 0,05$) количества макрофагов до 2 (1-2) баллов. Отмечено нарастание интенсивности ($p < 0,05$) равномерной инкапсуляции имплантированной сетки и её ячеек (2 (1-2) балла) нежно-волокнистой клеточной коллагеновой тканью (2 (1-2) балла) с плотной упакованностью коллагеновых волокон с пролиферацией фибробластов до 2 (1-2) баллов, но без констрикции ячеек. По внутренней поверхности многих ячеек сетки находились тонкие коллагеновой ткани, располагались диффузно разбросанные фибробласты и трансформированные МСК, распространенные очаги зреющей грануляционной ткани (3 (2-3) балла), сегментарная пролиферация эпителиоидных клеток (1 (0,5-1) балл), единичные атрофичные МГКИТ (0,5 (0-0,5) балла) с глыбками зрелого фибрина. Выраженная стимуляция неоангиогенеза до 3 (2-3) баллов в виде образования множества тонкостенных преимущественно мелких и полнокровных сосудов, изредка кавернозного вида превосходящая ($p < 0,05$) уровень как группы сравнения, так и предыдущего срока наблюдения группы 1. Перифокально моделированного дефекта брюшной стенки мышечная ткань не изменена.

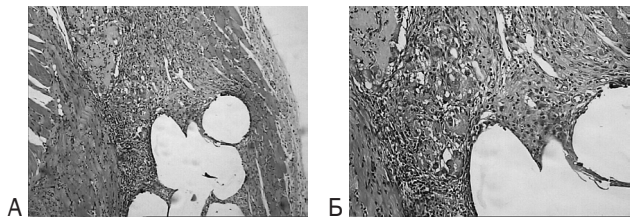


Рис. 6. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой с МСК ЖТ в желатиновом матриксе, 14 сутки; А – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$, Б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

На 28 сутки в зоне имплантированной полипропиленовой сетки (группа 2) отмечено прогрессирование ($p < 0,05$) образования плотной фиброзной ткани (3 (3-3) балла), которая занимала межячеистые пространства и окружала (инкапсуляция) все ячейки сетки ($p < 0,05$), в виде обширной зоны неоднородного вида (3 (3-3) балла), с постоянным ($p > 0,05$) незначительным содержанием тонких коллагеновых волокон в 0,75 (0,5-1) балла, что приводило к усилению ($p < 0,05$) констрикции многих ячеек сетки и перемычек (1 (1-1) балл). При этом межячеистая фиброзная ткань преимущественно малоклеточная с гомогенным межклеточным веществом; полиочагово – густоклеточная (фибробласты до 1 (1-2) балла ($p < 0,05$) и их предшественники) с весьма рыхлым межклеточным веществом с малочисленными ($p > 0,05$) тонкостенными капиллярами (1 (0,5-1) балл) и снижением распространенности ($p < 0,05$) мелких очагов серозно-продуктивного воспаления (0,75 (0,5-1) балла) с макрофагами (0,5 (0,5-1) балла), гистиоцитами и моноцитами. Капсула ячеек сетки также неоднородная. Внутренний слой густоклеточный с весьма рыхлым межклеточным веществом, прорастает и разрушает (глыбчатый распад), сегментарно или субтотально стенку ячейки. Наружный слой узкий малоклеточный с гомогенным межклеточным веществом. В большинстве ячеек ($p < 0,05$) внутренняя поверхность представлена МГКИТ (3 (3-3) балла), тотально загруженных фибрином, с формированием многочисленных ($p < 0,05$) гигантоклеточных гранул (2 (2-2) балла) и множеством ($p < 0,05$) очагов эпителиоидных клеток (1,5 (1-2) балла). В мышечной части дефекта: очаги дистрофичных фрагментов апоневроза, очаги резко отеочной и лизирующейся волокнистой ткани, мелкие фокусы склероза, немногочисленные мелкие артериолы с выраженным периадвентициальным склерозом, атрофические изменения миоцитов и мышечных волокон с замещением их соединительной тканью (рис. 7).

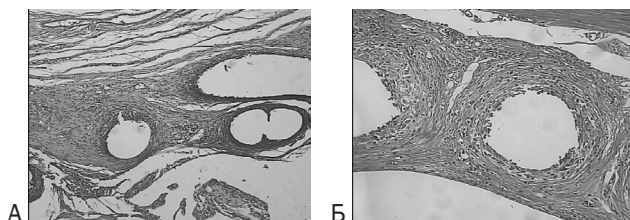


Рис. 7. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой, 28 сутки; А – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$, Б – окраска MSB, $\times 200$

Спустя 28 суток от начала эксперимента продолжались ($p < 0,05$) процессы прогрессирования рассасыва-

Оригинальные научные публикации

ния геля (2 (2-2) балла) и трансформации МСК ЖТ (2,5 (2-3) балла). Между инкапсулированными глобулами геля с очагами пролиферации ($p < 0,05$) эпителиоидных клеток по периферии (2 (2-3) балла), на всем протяжении имплантата и вокруг ячеек сетки прослеживалось увеличение ($p < 0,05$) малоклеточной тонковолокнистой коллагеновой ткани до 2 (1-2) баллов (с превышением ($p < 0,05$) при этом значения в группе сравнения), местами со скоплением мелких недифференцированных клеток (предшественники фибробластов), многочисленными очагами полнокровных капилляров (активность неоангиогенез в 2 (2-3) балла ($p < 0,05$) выше уровня контроля), с накоплением ($p < 0,05$) в толще фрагментов геля тяжелей коллагеновой ткани отростчатых фибробластов до 2,5 (2-3) баллов, фиброцитов и макрофагов до 2 (2-2) баллов. На границе с мышцами – малоклеточная фиброзная ткань с гнездами полнокровных капилляров, полоса мелкоячеистой фиброзной ткани, в ячейках которой – остатки бледного мелкозернистого геля (организация геля с замещением его клеточно-волоконистой фиброзной тканью). Внутренняя поверхность большинства ячеек сетки гладкая, в отдельных ячейках и перифокально – единичные дистрофичные МГКИТ (0,25 (0-0,5) балла ($p < 0,05$) в сравнении с группой контроля), без развития гранулем. Интенсивность отграничения (инкапсуляции) сетки нарастала ($p < 0,05$) до 2 (2-3) баллов, но при этом не достигала ($p < 0,05$) значения группы 2. Степень формирования фиброзной ткани, оцененная в 2 (1-2) балла, возрастающая в динамике ($p < 0,05$), была достоверно меньше, чем при изолированном применении полипропилена. Мелкие тяжи жировой ткани и тяж апоневроза без воспалительной инфильтрации. Констрикции ячеек сетки нет. Перифокальная мышечная ткань по большей части не изменена (рис. 8).

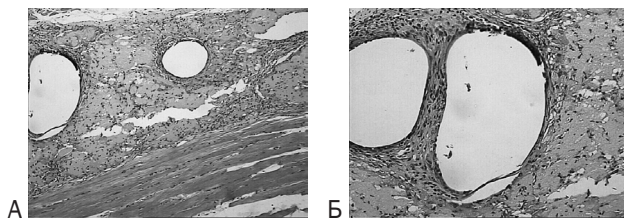


Рис. 8. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой с МСК ЖТ в желатиновом матриксе, 28 сутки; А – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$, Б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

По завершению эксперимента на 60 сутки в зоне расположения имплантата из полипропилена сохранялась ($p > 0,05$) преимущественно зрелая малоклеточная соединительная ткань (3 (3-3) балла). Отмечена выраженная инкапсуляция сетки и всех ячеек до 3 (3-3) баллов, слабая положительная динамика ($p < 0,05$) в развитии коллагенизации вокруг ячеек сетки и умеренно выраженная межячеистой ткани с формированной нежно-волоконистой ткани (1 (1-2) балл); в основном утолщенные, плотно упакованные коллагеновые волокна. Продолжалось формирование внутри ячеек соединительнотканых перемычек – рубцовая ткань с выраженной ($p < 0,05$) их констрикцией достигающей уровня 2 (2-2) баллов. Выявлена неоднородность регенераторных тканей в зоне пластики и неупорядоченность их локализации: объемные очаги мелкососудистой фи-

брозной ткани с минимальными признаками ($p < 0,05$) воспаления (0,25 (0-0,5) балла) и незначительным без динамики ($p > 0,05$) неоангиогенезом (1 (1-1) балл), полосовидные очаги рубцовой ткани (малоклеточная с отсутствием макрофагов и минимальным стабильным ($p > 0,05$) уровнем фибробластов (0,5 (0,5-1) балла) с гомогенизированным межклеточным матриксом). Установлено снижение ($p < 0,05$) скопления МГКИТ до 1 (1-2) балла с уменьшением ($p < 0,05$) количества гранулем (1 (1-1) балл). В мышечной ткани сохранялись контрактурные изменения отдельных миоцитов и диффузный склероз мышечной ткани (рис. 9).

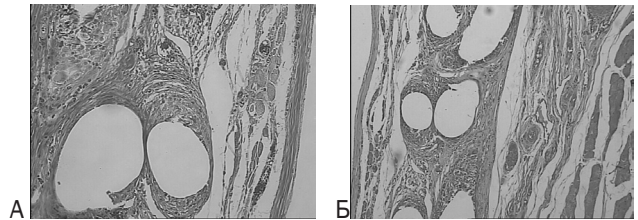


Рис. 9. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой, 60 сутки; А – окраска MSB, $\times 200$, Б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

В большинстве микропрепаратов основной группы ($p < 0,05$) определялась тотальная или субтотальная (изредка сохранялись единичные мелкие глобулы) резорбция геля (3 (3-3) балла). В срезах на обширном протяжении располагалась широкая полоса ($p < 0,05$) зрелой нежно-волоконистой соединительной ткани (3 (3-3) балла) с упорядоченным ходом коллагеновых волокон и упорядоченной ориентацией фибробластов с полной редукцией ($p < 0,05$) МСК ЖТ до 3 (3-3) баллов. В толще ткани сохранялись стабильно более выраженные ($p < 0,05$), чем в группе контроля, признаки диффузного ангиогенеза – обилие «мелких» (точечных) полнокровных капилляров (2 (2-2) балла). По сравнению с предыдущим наблюдением ($p < 0,05$) полностью завершена интеграция полипропиленовой сетки в окружающие ткани (3 (3-3) балла) с инкапсуляцией ячеек (3 (3-3) балла) с тотальным замещением фиброзной тканью их стенок (3 (3-3) балла), но без развития констрикции и деформации. По внутренней поверхности единичных ячеек отмечено уменьшение ($p < 0,05$) до 0,5 (0,5-1) баллов, как в сравнении с 28 сутками наблюдения, так и с группой контроля, сегментарного пласта распадающихся дистрофичных эпителиоидных клеток. Между ячейками сетки произошло значительное увеличение ($p < 0,05$) содержания зрелой нежно-волоконистой коллагеновой ткани с 2 (2-3) до 3 (3-3) баллов, что в 3 раза ($p < 0,05$) превысило уровень группы сравнения. Установлена умеренная клеточность регенераторной ткани с уменьшением ($p < 0,05$) количества макрофагов до 1 (1-1) балла, и фибробластов до 1 (1-2) баллов, превышающий ($p < 0,05$) значение аналогичного показателя в группе 2 и преобладанием фиброцитов, фибробластоподобных клеток. Во всех исследованных препаратах МГКИТ отсутствовали, перифокально сетке и на границе с мышцами не было диффузного склероза мышечной ткани с атрофией миоцитов и мышечных волокон (рис. 10).

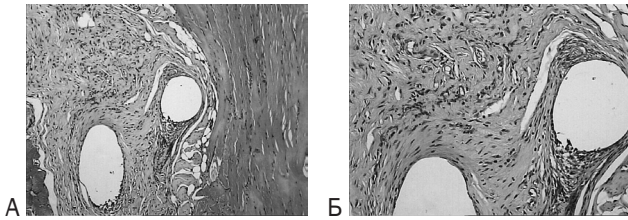


Рис. 10. Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой с МСК ЖТ в желатиновом матриксе, 60 сутки; А – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$, Б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Выводы

1. Анализ количественных показателей морфологических признаков динамики тканевой реакции при пластике моделированного дефекта у лабораторного животного позволил достоверно установить характер комплексного влияния трансплантации МСК ЖТ, импрегнированных в желатиновый матрикс, который включает в себя нивелирование негативного воздействия полипропиленовой хирургической сетки: снижение интенсивности острого и устранение хронического воспаления, формирование условий для естественной репарации с активацией ангиогенеза и синтезом полноценной коллагеновой ткани.

2. Использование МСК ЖТ совместно с полипропиленовым имплантатом достоверно синхронизировало на протяжении исследуемого периода механизмы постепенной ($p < 0,05$) соединительной инкапсуляции сетки и её ячеек без тотального формирования рубцовой ткани, препятствовало возникновению их деформации и констрикции.

3. Клеточная трансплантация минимизировала активность острого воспаления к 7 суткам наблюдения и прерывала хроническую воспалительную реакцию в отдаленном периоде (60 сутки), в отличие от изолированного применения нерассасывающейся хирургической сетки, при котором к завершению исследования сохранялись маркеры воспаления (0,25 (0-0,5) балла), МГКИТ (1 (1-1) балла) и гигантоклеточные гранулемы (1 (1-1) балла).

4. Локальное воздействие МСК ЖТ отличалось превосходством выраженности неоангиогенеза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) во всех промежуточных точках эксперимента, в том числе в 2 раза ($p < 0,05$) на 60 сутки исследования (2 (2-2) балла и 1 (1-1) балл, соответственно).

5. Многокомпонентный трансплантат с МСК ЖТ инициирует процесс естественной репарации с синтезом полноценной соединительной ткани в области пластики в основе которого лежит положительная динамика ($p < 0,05$) содержания коллагеновых волокон в сочетании с постоянным превышением количества фибробластов ($p < 0,05$) относительно уровня группы сравнения, с возрастанием ($p < 0,05$) обоих значений до 3 (3-3) баллов и 1 (1-1) балла, соответственно, к 60 суткам эксперимента.

Литература

1. Егиев, В. Н. Современное состояние и перспективы герниологии / В. Н. Егиев // Герниология. – 2006. – № 2 (10). – С.5–10.
2. Культивирование мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани *in vitro* на хирургических сетчатых эндопротезах «Prolene», «Vypro», «Ultrapro», «Vicryl», «Proceed» / В.Г. Богдан [и др.] // Медицин-

ский журнал. – 2009. – №4. – С.13–16.

3. Tissue engineering in abdominal wall surgery / C. Bellows [et al.] // Minerva Chir. – 2011. – №66 (2). – P.129-143.

4. Repair of fascia with polyglycolic acid mesh cultured with fibroblasts-experimental study /S. Kyzer [et al.]// Eur. Surg. Res. - 1997. - № 29(2). - P.84-92.

5. *In vitro* study of Human Dermal Fibroblasts seeded on two kinds of surgical meshes: monofilamented Polypropylene and multifilamented Polyester / M.A. Continenza [et al.] // Ital. J. Anat. Embryol. - 2003. - № 108(4). - P.231-239.

6. *In-vitro* study of the cellular response of human fibroblasts cultured on alloplastic hernia meshes. Influence of mesh material and structure / C. Langer [et al.] // Chirurg. - 2005. - № 76(9). - P.876-885.

7. Precoating of alloplastic materials with living human fibroblasts-a feasibility study / M. Kapischke [et al.]// Surg. Endosc. - 2005. - № 19. - P.791–797.

8. Сравнительная оценка степени фиксации фибробластов на синтетических эндопротезах, используемых для пластики дефектов передней брюшной стенки / В. Н. Егиев [и др.] // Герниология. 2006. № 2. С.37–41.

9. Сравнительный анализ полипропиленового и биологического сетчатых имплантатов в эксперименте / А.А. Гостевской [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2007. – Т.7, №3. – С.135–136.

10. Экспериментальное изучение динамики тканевой реакции в зоне имплантации полипропиленовых сетчатых эндопротезов, покрытых фибробластами / Е.А. Дубова [и др.] // Герниология. – 2007. – № 4. – С. 35–40.

11. The role of TGF-beta1 as a determinant of foreign body reaction to alloplastic materials in rat fibroblast cultures: comparison of different commercially available polypropylene meshes for hernia repair/ D. Weyhe [et al.] // Regul. Pept. – 2007. – № 138(1). – P.10–14.

12. Влияние эмбриональных фибробластов на динамику раневого процесса при эндопротезировании брюшной стенки (экспериментальное исследование) / С. В. Иванов [и др.] // Человек и его здоровье. – 2009. – №4. – С.61–68.

13. Сравнительная характеристика композиционных биоматриц с трехмерным желатиновым матриксом и мезенхимальными стволовыми клетками жировой ткани / В.Г. Богдан [и др.] // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2010. – т.54, № 3. – С.105–109.

14. Использование клеточных технологий с целью улучшения свойств соединительной ткани в эксперименте / И.С. Иванов [и др.] // Новости хирургии. – 2012. – Т.20, №4. – С.3–8.

15. Abdominal hernia repair with a decellularized dermal scaffold seeded with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells / Y. Zhao [et al.] // Artif. Organs. – 2012. – Vol.36, №3. – P.247–255.

16. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies / P.A. Zuk [et al.] // Tissue Engineering. – 2001. – Vol.7, № 2. – P.211–228.

17. Влияние обогащенной тромбоцитами плазмы на жизнеспособность, скорость роста, морфо-фенотипические и секреторные особенности мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека / В. Г. Богдан [и др.] // Медицинский журнал. – 2011. – №1. – С.27–29.

18. Сравнительный анализ функционального состояния мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, фибробластов кожи и апоневроза пациентов с послеоперационными вентральными грыжами / В.Г. Богдан [и др.] // Известия Национальной академии наук Беларуси. – 2011. – №4. – С.102–109.

19. Характеристика мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани человека, дифференцированных в фибробластном направлении / В. Г. Богдан [и др.] // Здравоохранение. – 2012. – № 4. – С.19–25.

20. Требования к научному эксперименту с использованием животных / С. Д. Денисов, Т. С. Морозкина // Здравоохранение. – 2001. – № 4. – С. 40–42.

21. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2002.–312 с.

Поступила 29.10.2012 г.