

## РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПЕРЕДНЕЙ БРЮШНОЙ СТЕНКИ В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ОПЫТНЫХ ОБРАЗЦОВ СЕТЧАТЫХ ЭНДОПРОТЕЗОВ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПОКРЫТИЕМ

Мишина Е.С.<sup>1</sup>, Затолокина М.А.<sup>1</sup>, Нетяга А.А.<sup>1</sup>, Климова Л.Г.<sup>1</sup>, Жуковский В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», Курск, Россия, e-mail: katusha100390@list.ru;

<sup>2</sup>ООО «Линтекс», г. С.-Петербург, Россия

В статье представлены данные экспериментально-морфологического исследования образцов брюшной стенки с имплантированным материалом, выполненного на крысах-самцах линии Wistar с использованием новых сетчатых эндопротезов для герниопластики с антибактериальным покрытием из наночастиц серебра. Полученные препараты оценивали по стандартным гистологическим критериям с подробным описанием слоя подкожно-жировой клетчатки, апоневроза и мышечной ткани в аспекте их реакции на сетку. Вычислялся клеточный индекс, представляющий собой отношение клеток гистиоцитарного ряда к клеткам воспалительного инфильтрата. Достоверно доказано ( $p \leq 0.05$ ), что при использовании сетчатого эндопротеза с антибактериальным покрытием на основе поливинилденфторида (ПВДФ) репаративные процессы протекают более активно по сравнению с полипропиленовым эндопротезом с таким же антибактериальным покрытием. Было установлено, что степень выраженности воспалительных изменений вокруг нитей эндопротезов обратно пропорциональна срокам эксперимента и наименее выражена в препаратах с использованием ПВДФ эндопротеза с антибактериальным покрытием. Полученные нами данные об антимикробных свойствах новых сетчатых эндопротезов могут быть использованы в общей хирургии, в герниологии, а также при изучении оперативной хирургии и микробиологии.

Ключевые слова: сетчатые эндопротезы, герниопластика, клеточный индекс, воспалительный инфильтрат, соединительнотканная капсула, антибактериальное покрытие из серебра, поливинилденфторидный (ПВДФ) и полипропиленовый (ПП) эндопротез.

## REACTIVE CHANGES OF CONNECTIVE TISSUE ANTERIOR ABDOMINAL WALL IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD WITH USING EXPERIMENTAL SAMPLES NET ENDOPROSTHESIS ANTIBACTERIAL COATING

Mishina E.S.<sup>1</sup>, Zatolokina M.A.<sup>1</sup>, Netyaga A.A.<sup>1</sup>, Klimova L.G.<sup>1</sup>, Zhukovsky V.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kursk State Medical University, Kursk, Russia, e-mail: katusha100390@list.ru;

<sup>2</sup>"Lintex", St. Petersburg, Russia

The article presents the results of experimental studies performed on rat male Wistar c using the new mesh implants for hernia repair with an antibacterial coating of silver nanoparticles. Was conducted morphological study of samples of the abdominal wall with the implanted material. The resulting products were assessed by standard histological criteria detailing the layer of subcutaneous fat, fascia and muscle tissue in terms of their response to the grid. Calculated cell index representing a ratio to the number of cells histiocytic infiltration of inflammatory cells. Demonstrated significantly ( $p \leq 0.05$ ) that the use of a mesh coated with an antibacterial endoprosthesis based polivinildentoftrida (PVDF) reparative processes are more active, as compared with polypropylene endoprosthesis same antibacterial coating. It has been found that the degree of inflammatory changes around the filaments is inversely proportional terms endoprosthesis experiment and is expressed in the least formulations using PVDF endoprosthesis with an antibacterial coating. Obtained data on the antimicrobial properties of new mesh implants in hernia repair and can be used in general surgery, in herniology, and microbiology.

Keywords: mesh implants, hernia repair, cell index, inflammatory infiltrate, antibacterial coating of silver, PVDF- and PP endoprosthesis.

Проблема лечения вентральных грыж до сих пор привлекает внимание хирургов всего мира. Это можно объяснить большой распространенностью данной патологии. Так, грыжи

передней стенки живота встречаются у 6-7% мужчин и у 2,5% женщин всего мира. Внедрение принципа пластики грыжевых ворот без натяжения тканей с использованием эндопротезов позволило упростить оперативную технику герниопластики, уменьшить операционную травму, а также улучшить отдаленные результаты (снизить частоту рецидивов с 10-30% до 0,1-1% [4]. Применение имплантатов привело к возникновению новой клинической проблемы – увеличению количества случаев инфекционных осложнений [7; 10]. При использовании протеза количество осложнений со стороны раны, таких как нагноение, серома, гематома, отторжение протеза, может достигать, по разным источникам, от 18,6 до 67% [3-5; 8]. Послеоперационные осложнения являются основной причиной продолжительного течения послеоперационного периода и значительного увеличения материальных затрат на лечение.

В доступной литературе встречаются разрозненные и единичные данные об использовании в герниопластике эндопротезов с серебряным покрытием, но нет данных о применении этих эндопротезов в инфицированных условиях, о морфологических изменениях элементов тканей, окружающих имплантированный эндопротез [4].

Таким образом, несистематизированное и разнонаправленное количество данных по проблеме использования эндопротезов с антибактериальным покрытием при обычной и инфицированной герниопластике и определило цель нашего экспериментального исследования.

**Цель исследования.** Изучить особенности реакции соединительной ткани передней брюшной стенки в раннем послеоперационном периоде при использовании опытных образцов сетчатых эндопротезов с антибактериальным покрытием.

**Материалы и методы.** Эксперименты *in vivo* выполнены на 30 белых крысах-самцах линии Wistar массой  $180,0 \pm 20,00$  г. Для проведения исследования нами были взяты экспериментальные образцы двух эндопротезов, состоящих из ПВДФ-нитей и пролипропилена, с нанесенным на них антибактериальным покрытием из серебра, предоставленных нам ООО «Линтекс» г. Санкт-Петербург.

Для исследования отбирали животных без внешних признаков заболевания, прошедших карантин в условиях вивария КГМУ. Животные были разделены на 2 экспериментальные группы по 15 крыс в каждой. Оперативные вмешательства выполняли в вечернее время суток в течение 2 недель. Во всех 3 сериях опытов под эфирным наркозом в стерильных условиях оперблока всем животным проводили разрез по средней линии живота в верхней трети длиной 4 см; рассекали кожу и подкожную клетчатку. Тупо выделяли участок апоневроза прямых мышц живота размером 4x4 см. К этому участку мононитью 2/0 фиксировали сетчатый эндопротез размером 2x2 см, моделируя надaponевротическую

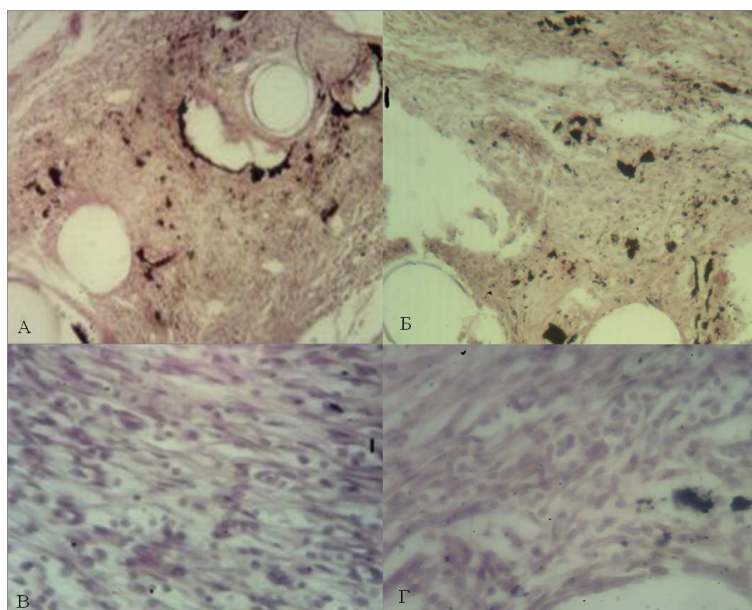
пластику. Эндопротез фиксировали узловыми швами по всей его площади. После этого в послеоперационную рану вводили 0,1 мл физиологического раствора, содержащего 1 млрд взвеси микробных тел суточной культуры *Staphylococcus aureus* 592 и *E. coli*. Послеоперационную рану ушивали. Выведение животных из эксперимента проводили на 7, 14, и 21-е сутки путем передозировки средств для наркоза. После выведения животных из эксперимента забирали фрагмент брюшной стенки вместе с эндопротезом из центральной части имплантата размером 1x1 см. Далее изъятый материал фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина в течение 10 суток, затем образцы тканей обезжизивали и заливали в парафин по стандартной методике. С парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином, методом Ван-Гизона, PAS-реакция + альциановый синий с докраской ядер гематоксилином.

После юстировки оптической системы микроскопа Leica-CME с помощью окулярной фотонасадки DCM-510 были сфотографированы интересующие участки препаратов при  $\times 40$  и  $\times 100$ -кратных увеличениях. Для определения преобладания воспалительных или репаративных тенденций производили подсчет качественного состава клеточных инфильтратов возле нитей эндопротезов и между ними. Выраженность воспалительной реакции оценивалась путем определения площади инфильтрата вокруг нитей эндопротеза.

Далее подсчет клеток производился в стандартном поле зрения в непосредственной близости к нити эндопротеза в расположенном рядом с нитью клеточном инфильтрате на увеличении  $\times 400$ . Расчет процентного состава производился на 100 клеток. Считали клетки резиденты (фиброциты, фибробласты и макрофаги) и нерезиденты (лимфоциты, нейтрофилы, эозинофилы и моноциты). С целью подтверждения статистической значимости расхождений средних величин в 2 сериях эксперимента нами в соответствии со стандартами ИСО 3534-3-99, а также ГОСТ Р 50779.10-2000 (ИСО 3534-1-93) после определения типа распределения данных был выбран метод оценки достоверности отличий Вилкоксона-Манна-Уитни. Все вычисления выполнялись с помощью аналитического пакета приложения Excel Office 2010.

### **Полученные результаты и их обсуждение**

При изучении микропрепаратов с использованием эндопротезов двух образцов на 7-е сутки эксперимента было выявлено, что волокнистая соединительная ткань дермы резко отечна, кровеносные сосуды полнокровны. Нити окружены воспалительным инфильтратом, в котором преобладают сегменто- и палочкоядерные нейтрофилы, макрофаги и лимфоциты. Степень выраженности выявленных изменений больше в препаратах с использованием полипропиленового эндопротеза (рис. 1).



*Рис. 1. Микрофотография области имплантации эндопротеза из ПВДФ-нитей (А), (В) и полипропилена (Б), (Г) на 7-е сутки эксперимента. Ув. x40 - А и Б, ув. x100 - В и Г. Окр. Г+Э.*

На 14-е сутки эксперимента в препаратах с использованием ПВДФ-эндопротеза вокруг нитей имплантата сформирована хорошо выраженная двухслойная соединительнотканная капсула. Круглоклеточная инфильтрация частично сохранялась только в участках, расположенных между пучками нитей эндопротеза. Капсула хорошо васкуляризована. При использовании полипропиленового эндопротеза продолжала сохраняться отечность и лейкоцитарно-макрофагальная инфильтрация. Соединительнотканная капсула образована коллагеновыми волокнами, которые собраны в пучки, богата клеточными элементами, среди которых преобладают фибробласты и единичные гранулоциты, четкой границы между наружными и внутренними слоями капсулы нет (рис. 2).

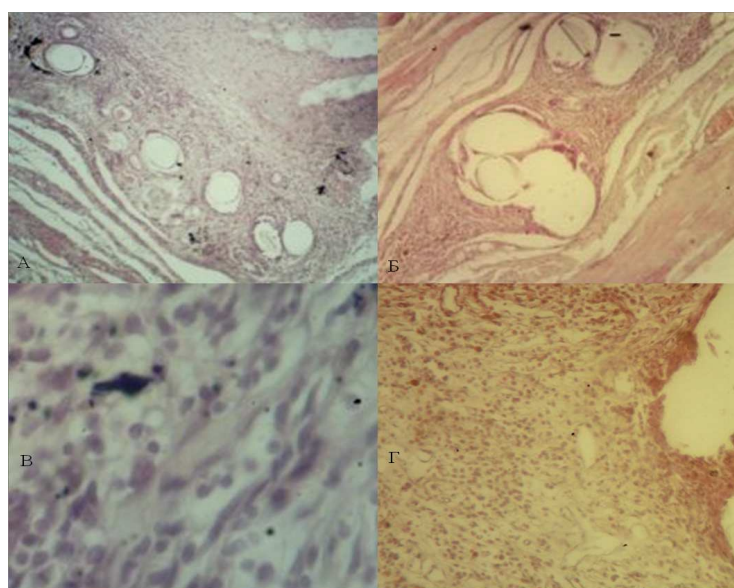


Рис. 2. Микрофотография области имплантации эндопротеза из ПВДФ-нитей (А), (В) и полипропилена (Б), (Г) на 14-е сутки эксперимента. Ув. x40 - А и Б, ув. x100 - В и Г. Окр. Г+Э.

На 21-е сутки в препаратах с использованием эндопротеза из ПВДФ-нитей среди клеток фибробластического ряда наблюдалось прорастание всех ячеек сетки эндопротеза волокнистой соединительной тканью с признаками организации волокон в пучки. На поверхности нитей сплошным слоем располагались фибробласты. При использовании полипропиленового эндопротеза продолжали сохраняться единичные очаги воспалительных изменений вокруг нитей эндопротеза. В окружающей соединительной ткани дермы в поле зрения встречалось большое количество гигантских клеток инородных тел. Вокруг нитей эндопротеза отмечается формирование хорошо выраженной соединительнотканной капсулы, от которой происходило врастание молодых соединительнотканых волокон в ячейки эндопротеза (рис. 3).

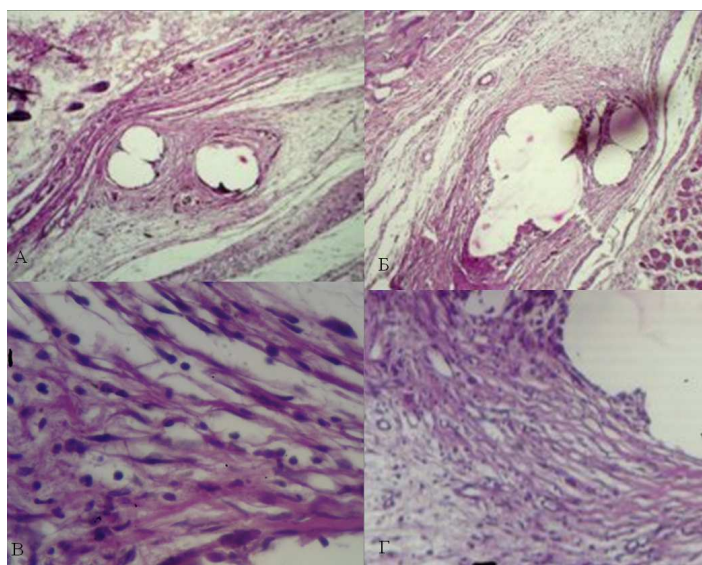


Рис. 3. Микрофотография области имплантации эндопротеза из ПВДФ-нитей (А), (В) и полипропилена (Б), (Г) на 21-е сутки эксперимента. Ув. x80 - А и Б, ув. x 400 - В и Г. Окр. Г+Э.

При определении площади инфильтрата нами были получены следующие результаты (таблица 1).

Таблица 1 - Динамика изменения площади воспалительно-клеточного инфильтрата,  $M \pm m$ , кв. мм

Образец \ Сутки	7	14	21
Полипропиленовый	$1,23 \pm 0,02^1$	$0,94 \pm 0,04^2$	$0,84 \pm 0,02$
ПВДФ-нити	$1,24 \pm 0,01^3$	$1,17 \pm 0,03^{4,5}$	$0,65 \pm 0,02^6$

Примечание: различия клеточных индексов достоверны ( $p < 0,05$ ) <sup>1</sup> – по отношению к полипропиленовому эндопротезу на 14-е сутки, <sup>2</sup> – по отношению к полипропиленовому эндопротезу на 21-е сутки, <sup>3</sup> – по отношению к ПВДФ-эндопротезу на 14-е сутки, <sup>4</sup> – по отношению к ПВДФ-эндопротезу на 21-е

сутки, <sup>5</sup> - по отношению к полипропиленовому эндопротезу на 14-е сутки, <sup>6</sup> - по отношению к полипропиленовому эндопротезу на 21-е сутки.

Как видно из таблицы 1, динамика морфологических изменений вокруг нитей полипропиленового и ПВДФ-эндопротезов была сходной. Происходит снижение площади инфильтрата на 21-е сутки на 36,3 и 54,8% соответственно по отношению к начальным срокам эксперимента. Несмотря на то что у ПВДФ-эндопротеза на 7-е сутки имеется большая выраженность воспалительной реакции, в итоге на 21-е сутки площадь инфильтрации оказывается ниже по сравнению с полипропиленовым эндопротезом.

Аналогичную картину течения репаративного процесса подтверждают показатели подсчета клеточных элементов в воспалительном инфильтрате вокруг нитей эндопротеза (рис. 4).

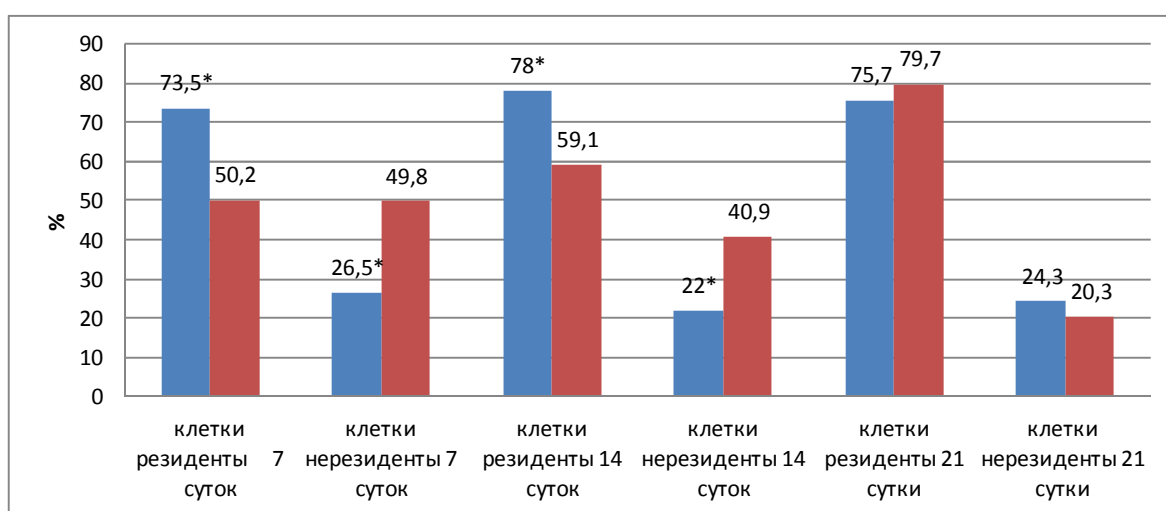


Рис. 4. Динамика изменения клеточного состава воспалительно-клеточного инфильтрата.

Примечание: \*- различия значений клеточного состава достоверны ( $p < 0,05$ ) по отношению к группе с использованием полипропиленового эндопротеза.

На данной диаграмме представлена динамика изменения клеточного состава ткани вокруг нитей эндопротезов с антибактериальным покрытием из серебра на основе полипропилена и ПВДФ-нитей. На всех сроках эксперимента отмечалось увеличение количества клеток резидентов. Максимальное количество нерезидентных клеток выявлено на 7-е сутки с использованием полипропиленового имплантата (49,8%), в то время как с использованием ПВДФ-имплантата в 1,8 раза меньше - 26,5%. С использованием ПВДФ-эндопротеза максимальное количество резидентных клеток наблюдалось уже на 14-е сутки (78%), а с использованием полипропиленового эндопротеза максимальное значение было достигнуто только к 21-м суткам (79,7%). Численность нерезидентных клеток на 14-е сутки составляла 40,9 и 22% соответственно. На 21-е сутки при использовании полипропиленового эндопротеза количество клеток-нерезидентов снизилось почти в 2 раза и составило 20,3%, а при использовании ПВДФ-эндопротеза уменьшилось на 2,2% и составило 24,3%.

**Выводы.** Таким образом, при использовании сетчатого ПВДФ-эндопротеза с антибактериальным покрытием регенеративные процессы протекают более активно по сравнению с сетчатым полипропиленовым эндопротезом с антибактериальным покрытием.

Степень выраженности воспалительных изменений вокруг нитей эндопротезов обратно пропорциональна срокам эксперимента и наименее выражена в препаратах с использованием сетчатого ПВДФ-эндопротеза с антибактериальным покрытием.

Следовательно, наилучшей биосовместимостью и антибактериальными свойствами обладает имплантат с антибактериальным покрытием из серебра на основе ПВДФ-нитей.

### Список литературы

1. Иванов С.В., Иванов И.С., Цуканов А.В., Елизаров А.Е. Выбор метода и анализ результатов эндопротезирования передней брюшной стенки у пациентов с вентральными грыжами // Человек и его здоровье : курский научно-практический вестник. – 2011. - № 3. - С. 65-69.
2. Кузнецов А.В, Добряков Б.С., Шестаков В.В., Смарж Т.М. Протекание раннего послеоперационного периода в герниологии при разных способах антибиотикопрофилактики // Медицина и образование в Сибири. - 2012. - № 2. - С. 39.
3. Нетяга А.А., Парфенов А.О., Нутфуллина Г.М., Жуковский В.А. Легкие или композитные эндопротезы для герниопластики: выбор материала на основании экспериментального изучения их биосовместимых свойств // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 5. – С. 57-59.
4. Суковатых Б.С., Валуйская Н.М., Нетяга А.А., Герасимчук Е.В., Жуковский В.А. Эндопротезирование брюшной стенки с лифтингом мышечно-апоневротических тканей гипогастральной области в лечении вентральных грыж больших размеров // Человек и его здоровье : курский научно-практический вестник. - 2012. - № 3. – С. 88-92.
5. Ярош А.Л., Должиков А.А., Колпаков А.Я., Битенская Е.П., Молчанов А.С., Герасименко Д.В. Исследование биосовместимости хирургических имплантов нового поколения для пластики передней брюшной стенки // Фундаментальные исследования. - 2011. - № 10 (часть 1). – С. 186-189.
6. Чубуков А.Ю., Кузнецов А.В. Оценка способов ведения пациентов с серомами в раннем послеоперационном периоде // Материалы II Российской (итоговой) конкурс-конференции студентов и молодых ученых. — Новосибирск, 2010. — С. 171-172.
7. Agrawal A., Avill R. Mesh migration following repair of inguinal hernia: a case report and review of literature // Hernia. - 2005. - Vol. 29. – P. 1-4.
8. Godek M.L., Duchsherer N.L., Mc Elwee Q., Grainger D.W. Morphology and growth of murine cell lines on model biomaterials // Biomed Sci Instrum. – 2004. - Vol. 40. - P. 7-12.

### Рецензенты:

Бежин А.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии им. профессора А.Д. Мясникова, ГБОУ ВПО «КГМУ» Минздрава России, г. Курск;

Липатов В.А., д.м.н., профессор кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, доцент, ГБОУ ВПО «КГМУ» Минздрава России, г. Курск.