

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОЛЛАГЕНСТИМУЛИРУЮЩИХ ПОКРЫТИЙ ДЛЯ ГЕРНИОИМПЛАНТАТОВ: СРАВНЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ТКАНИ В ЗОНЕ ИМПЛАНТАЦИИ

Пономарева И.В.¹, Цуканов А.В.¹, Иванов И.С.¹, Затолокина М.А.^{1,2}, Горюшкин Е.И.¹, Главиш И.С.¹

¹ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Курск, e-mail: ira.ponomareva92@mail.ru:

²ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, e-mail: marika1212@mail.ru

Необходимо уделять внимание герниоимплантатам с коллагенстимулирующим покрытием при пластике грыж передней брюшной стенки для достижения адекватной биосовместимости в зоне имплантации. Цель работы – оценить реакцию тканей на имплантируемые полипропиленовые герниоимплантаты с коллагенстимулирующим покрытием и без покрытия. В исследовании 75 крыс линии Вистар были разделены на 3 группы: первой группе имплантировали полипропиленовый герниоимплантат без покрытия, второй группе – полипропиленовый герниоимплантат с рутиновым покрытием, третьей группе – полипропиленовый герниоимплантат с покрытием рутин + аскорбиновая кислота. На 7-е, 30-е, 90-е сутки гистологические срезы биоматериала лабораторных животных после окрашивания гематоксилином и эозином по методу Ван Гизона и Маллори изучали при помощи световой микроскопии. На 7-е сутки в зоне имплантации полипропиленового герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота наблюдалось достоверное ($p \leq 0,05$) увеличение скорости пролиферации клеток фибробластического ряда при сравнении с полипропиленовыми герниоимплантатами без покрытия и с рутиновым покрытием. Однако на 90-е сутки наблюдалось статистически значимое ($p \leq 0,05$) уменьшение количества фиброцитов в группе с рутиновым покрытием имплантата по сравнению с контрольной группой и группой полипропиленового герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота. Герниоимплантат с покрытием рутин + аскорбиновая кислота лучше интегрировался с окружающими тканями, что выражалось в раннем преобладании клеток фибробластического ряда, которые способствовали синтезу коллагена.

Ключевые слова: герниоимплантат, соединительная ткань, коллаген, рутин, аскорбиновая кислота.

USE OF COLLAGEN-STIMULATING COATINGS FOR HERNIAIMPLANTS: COMPARISON OF MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TISSUE IN THE IMPLANTATION AREA

Ponomareva I.V.¹, Tsukanov A.V.¹, Ivanov I.S.¹, Zatolokina M.A.^{1,2}, Goryushkin E.I.¹, Glavish I.S.¹

¹Kursk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, e-mail: ira.ponomareva92@mail.ru:

²Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, e-mail: marika1212@mail.ru

It is necessary to pay attention to herniaimplants with a collagen-stimulating coating during hernioplasty of the anterior abdominal wall in order to achieve adequate biocompatibility in the area implantation. The purpose of the work is to evaluate the response of tissues to implantable polypropylene herniaimplants with and without collagen-stimulating coating. In the study 75 Wistar rats were divided into 3 groups: the first group was implanted with a polypropylene herniaimplant without coating, the second group – a polypropylene herniaimplant with a rutine coating, the third group - a polypropylene herniaimplant with coating a rutine + ascorbic acid. On days 7, 30 and 90, histological sections of the biomaterial of laboratory animals were examined using light microscopy after staining with hematoxylin and eosin according to the method of Van Gieson and Mallory. On the 7 day, in the area of implantation of the polypropylene herniaimplant with coated rutin + ascorbic acid, a significant ($p \leq 0,05$) increase in the rate of fibroblast series cell proliferation was observed compared to polypropylene herniaimplants without coating and with rutin coating. However, on day 90, a statistically significant ($p \leq 0,05$) decrease in the number of fibrocytes was observed in the group with a rutine implant coating compared to the control group and the group of a polypropylene herniaimplant with coated rutin + ascorbic acid. The herniaimplant with coated rutin + ascorbic acid integrated better with the surrounding tissues, which was expressed in the early predominance of fibroblast series cells, which contributed to the synthesis of collagen.

Keywords: herniaimplant, connective tissue, collagen, rutin, ascorbic acid.

Одной из частых проблем в хирургии являются вентральные грыжи, которые возникают в слабых участках передней брюшной стенки или развиваются на месте рубца после предыдущего оперативного вмешательства. Устойчивость соединительной ткани к растяжению определяется белковым составом внеклеточного матрикса, в частности соотношением коллагена I и III типов. Преобладание коллагена III типа определяет образование менее прочных коллагеновых волокон, которые менее стабильны к растяжению. Тем самым дисбаланс между коллагеном I и III типов приводит к появлению первичных или рецидивирующих грыж передней брюшной стенки [1, 2].

В Российской Федерации в 2021 году было выполнено 28 819 хирургических вмешательств по поводу послеоперационной вентральной грыжи (ПОВГ), из них в 14,08% случаев проводили герниопластику местными тканями, в 79,40% – с применением сетчатых герниоимплантатов и в 6,52% случаев выполняли эндоскопическую герниопластику [3].

Одной из наиболее распространенных операций при ПОВГ является ненатяжная герниопластика с использованием полипропиленовых герниоимплантатов, что способствует укреплению ослабленных и поврежденных тканей и одновременно уменьшает риск рецидива [4, 5]. Однако определенные особенности процесса репарации имплантированного герниоимплантата могут способствовать плохой интеграции с окружающими тканями, что может отразиться на прочности формируемой соединительной ткани, а также привести к осложнениям: инфицированию герниоимплантата, спайкам, рецидиву и послеоперационной боли [6, 7, 8]. В связи с этим следует уделять внимание герниоимплантатам с покрытием, стимулирующим синтез коллагена, что позволит достичь адекватной биосовместимости и удовлетворительных результатов при герниопластике [9, 10].

Цель работы – оценить реакцию тканей на имплантируемые полипропиленовые герниоимплантаты с коллагенстимулирующим покрытием и без покрытия.

Материалы и методы исследования

Экспериментальное исследование проводили на базе лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России при одобрении регионального этического комитета (пр. № 3 от 12.03.2019 г.) на 75 крысах линии Вистар. Животных распределили на 3 группы с учетом используемых герниоимплантатов с различными покрытиями при эндопротезировании передней брюшной стенки методом onlay. В первой контрольной группе использовали сетчатый полипропиленовый герниоимплантат без покрытия. Во второй группе применяли полипропиленовый герниоимплантат с рутиновым покрытием. В третьей группе эксперимента выполняли эндопротезирование полипропиленовым герниоимплантатом с покрытием рутин + аскорбиновая кислота. На 7-е, 30-е, 90-е сутки изготовленные гистологические срезы биоматериала лабораторных животных

после окрашивания гематоксилином и эозином по методу Ван Гизона и Маллори изучали при помощи световой микроскопии на микроскопе Levenhuk C320 (страна-изготовитель КНР) при увеличении $\times 200$.

Статистический анализ проводили с использованием Microsoft Excel и Statistica 10: рассчитывали медиану, 25-й и 75-й перцентили. Достоверность оценивали с применением критерия Краскела–Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании образцов, полученных в первой группе, на 7-е сутки наблюдался выраженный интерстициальный отек вокруг герниоимплантата. В перипротезной зоне непосредственной близости к нитям герниоимплантата определялись отложение нитей фибрина, высокая клеточная плотность, среди которых преобладали клеточные элементы воспалительного ряда – лимфоциты, нейтрофилы, моноциты (рис. 1А).

На 30-е сутки выявили наличие сформированной неоднородной соединительнотканной перипротезной капсулы, которую образовывали коллагеновые волокна высокой степени зрелости. В поле зрения определялись не только клетки фибробластического ряда, но и лимфоциты, макрофаги, тучные клетки и гигантские многоядерные клетки (ГМК) (рис. 1Б).

На 90-е сутки сформированная перипротезная капсула состояла из зрелых коллагеновых волокон, расположенных в наружном волокнистом слое плотно и компактно по отношению друг к другу (рис. 1В). Но при этом визуализировалось значительное разрастание белой жировой ткани в перипротезной области. На данном сроке в срезах присутствовало большое количество ГМК, тучных клеток в стадии дегрануляции.



Рис. 1. Микроснимок зоны имплантации полипропиленового герниоимплантата в области передней брюшной стенки на 7-е (А), 30-е (Б) и 90-е (В) сутки.

Окраска по методу Ван Гизона (А, Б, В). Ув. $\times 200$

Во второй группе эксперимента на 7-е сутки наблюдались яркие признаки интерстициального отека и высокая плотность клеток вокруг герниоимплантата в окружающих тканях. Следует также отметить, что на данном сроке непосредственно на

волокнах герниоимплантата визуализировались единичные гигантские клетки инородных тел и большое количество фибробластов (рис. 2А).

На 30-е сутки эксперимента вокруг имплантированного герниоимплантата наблюдалась полноценно сформированная двухслойная перипротезная капсула, образованная зрелыми коллагеновыми волокнами. Наружный ее слой не имел выраженной границы с соединительной тканью органов, окружавших герниоимплантат. Во внутреннем слое преобладали клетки фибробластического дифферона и тучные клетки в стадии грануляции. ГКИТ большие, высокой функциональной активности, локализовались как на нитях, так и между ними (рис. 2Б).

На 90-е сутки завершилось ремоделирование, капсула прочная и хорошо структурирована. Плотность клеток низкая, но ГКИТ продолжали сохраняться в большом количестве, что говорит о постоянном ремоделировании окружающих тканей (рис. 2В).

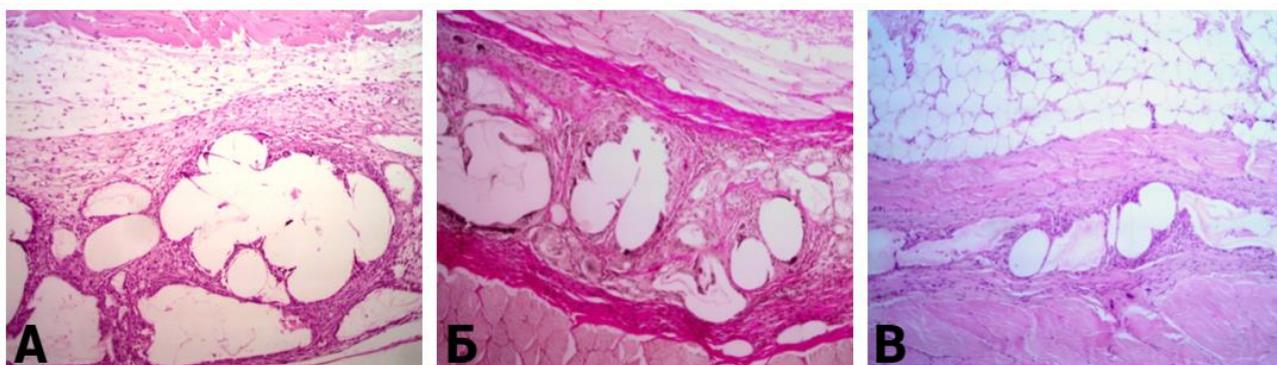


Рис. 2. Микроснимок зоны имплантации полипропиленового герниоимплантата с рутинowym покрытием в области передней брюшной стенки на 7-е (А), 30-е (Б) и 90-е сутки (В).

Окраска Г+Э (А, В), по методу Ван Гизона (Б). Ув. х 200

При исследовании образца третьей группы на 7-е сутки эксперимента в окружающих тканях визуализировался выраженный интерстициальный отек вокруг имплантированного герниоимплантата, при этом в непосредственной близости от нитей протеза отчетливо просматривались нити фибрина (рис. 3А). Также в поле зрения преобладают клетки воспалительного ряда.

На 30-е сутки выявилось полное покрытие герниоимплантата соединительнотканной капсулой, которая имеет разную толщину и структурную организацию на фоне хорошо выраженной послойности в своем строении. Степень ее большей выраженности и упорядоченности волокон наблюдалась на стороне, обращенной к коже, где она была представлена зрелыми, плотно расположенными параллельно друг другу коллагеновыми волокнами (рис. 3Б). Непосредственно на нитях герниоимплантата локализовались ГМК небольших размеров.

На 90-е сутки определялись максимальная толщина и степень зрелости соединительнотканной капсулы с четко выраженным послойным строением и минимальной деформацией. Между нитями герниоимплантата наблюдалась высокая плотность клеток: фибробласты, фиброциты, лимфоциты и отдельные ГМК небольшого размера (рис. 3В).

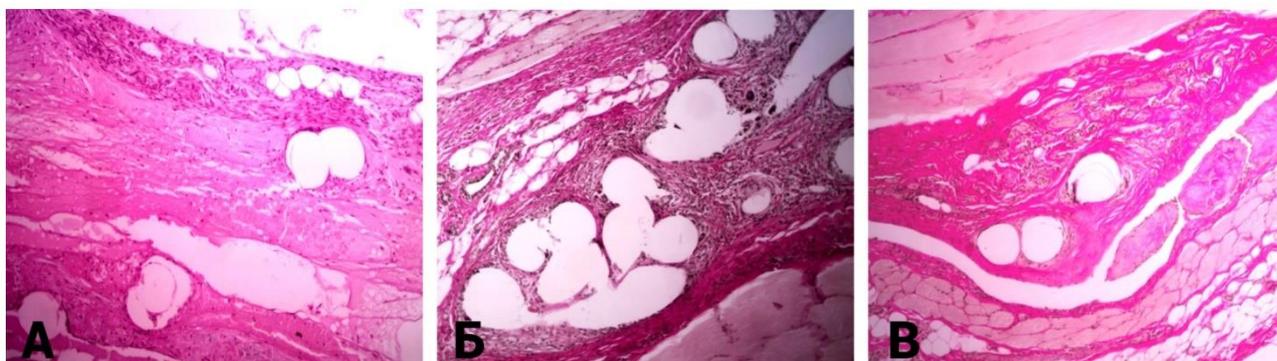


Рис. 3. Микроснимок зоны имплантации полипропиленового герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота в области передней брюшной стенки на 7-е (А), 30-е (Б) и 90-е (В) сутки. Окраска Г+Э (А), по методу Ван Гизона (Б, В). Ув. х 200

При анализе данных, представленных в таблице 1, на 7-е сутки в зоне имплантации полипропиленового герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота наблюдалось достоверное ($p \leq 0,05$) увеличение скорости пролиферации клеток фибробластического ряда при сравнении с герниоимплантатами без покрытия и с рутиновым покрытием. В свою очередь, имелось статистически достоверное ($p \leq 0,05$) увеличение уровня нейтрофилов в группах герниоимплантатов с рутиновым покрытием и покрытием рутин + аскорбиновая кислота по сравнению с полипропиленовым герниоимплантатом без покрытия (контрольная группа). Кроме того, на 7-е сутки в группе полипропиленового герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота уровень лимфоцитов был достоверно ниже, чем в контрольной группе и группе пропиленового герниоимплантата с рутиновым покрытием.

Таблица 1

Количественный состав клеток на 7-сутки
в зоне имплантируемых герниоимплантатов, Ме (25; 75)

Клетки	Полипропиленовый герниоимплантат (контрольная группа)	Полипропиленовый герниоимплантат с рутиновым покрытием	Полипропиленовый герниоимплантат с покрытием рутин + аскорбиновая кислота
Фибробласты, %	35 (33; 37)	31 (30; 33)	53 (51; 54)*@

Фиброциты, %	20 (18; 21)	19 (17; 21)	11 (9; 12) ^{*@}
Лимфоциты, %	14 (12; 16)	19 (17; 20)	10 (8; 11) ^{*@}
Макрофаги, %	3 (2; 5)	5 (4; 6) [*]	1 (0; 2) [@]
Нейтрофилы, %	4 (2; 5)	8 (6; 10) [*]	8 (6; 9) [*]

Примечание: ^{*} $p \leq 0,05$ – при сравнении контрольной группы с группами полипропиленовых герниоимплантатов с рутиновым покрытием и покрытием рутин + аскорбиновая кислота, [@] $p \leq 0,05$ при сравнении групп полипропиленовых герниоимплантатов с рутиновым покрытием и покрытием рутин + аскорбиновая кислота

Согласно данным, указанным в таблице 2, на 30-е сутки отмечается достоверное ($p \leq 0,05$) снижение количества фиброцитов в группе полипропиленового герниоимплантата с рутиновым покрытием по сравнению с контрольной группой и группой с покрытием рутин + аскорбиновая кислота. Уровень лимфоцитов в группе полипропиленового имплантата с рутиновым покрытием и с покрытием рутин + аскорбиновая кислота был достоверно ($p \leq 0,05$) выше, чем в группе полипропиленового герниоимплантата без покрытия. Статистически значимое ($p \leq 0,05$) снижение уровня макрофагов наблюдалось в группе полипропиленового герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота в сравнении с контрольной группой и группой полипропиленового герниоимплантата с рутиновым покрытием. Однако на 30-е сутки количество нейтрофилов было статистически значимо выше в группе полипропиленового герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота относительно групп контроля и герниоимплантата с рутиновым покрытием.

Таблица 2

Количественный состав клеток на 30-сутки
в зоне имплантируемых герниоимплантатов, Ме (25; 75)

Клетки	Полипропиленовый герниоимплантат (контроль)	Полипропиленовый герниоимплантат с рутиновым покрытием	Полипропиленовый герниоимплантат с покрытием рутин + аскорбиновая кислота
Фибробласты, %	33 (32; 34)	32 (30; 34)	31 (29; 33)
Фиброциты, %	41 (40; 42)	31 (29; 33) [*]	41 (39; 42) [@]
Лимфоциты, %	8 (7; 9)	13 (11; 15) [*]	12 (10; 13) [*]
Макрофаги, %	8 (6; 9)	7 (4; 8)	3 (2; 4) ^{*@}

Нейтрофилы, %	1 (0; 2)	2 (1; 3)	5 (3; 6)*
---------------	-------------	-------------	--------------

Примечание: * $p \leq 0,05$ – при сравнении контрольной группы с группами полипропиленовых герниоимплантатов с рутиновым покрытием и покрытием рутин + аскорбиновая кислота, @ $p \leq 0,05$ при сравнении групп полипропиленовых герниоимплантатов с рутиновым покрытием и покрытием рутин + аскорбиновая кислота

Исследование количества клеток вокруг герниоимплантатов на 90-е сутки (табл. 3) показало, что уровень фибробластов в группе герниоимплантата с рутиновым покрытием был достоверно ($p \leq 0,05$) выше, чем в группах контроля и герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота. Однако при этом наблюдалось статистически значимое ($p \leq 0,05$) снижение количества фиброцитов в группе с рутиновым покрытием имплантата по сравнению с контрольной группой и группой полипропиленового герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота. В свою очередь, группа герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота на 90-е сутки показала сниженный уровень ($p < 0,05$) лимфоцитов относительно групп герниоимплантата без покрытия и с покрытием рутином.

Таблица 3

Количественный состав клеток на 90-сутки
в зоне имплантируемых герниоимплантатов, Ме (25; 75)

Клетки	Полипропиленовый герниоимплантат (контроль)	Полипропиленовый герниоимплантат с рутиновым покрытием	Полипропиленовый герниоимплантат с покрытием рутин + аскорбиновая кислота
Фибробласты, %	21 (21; 22)	39 (38; 40)*	26 (24; 27)*@
Фиброциты, %	63 (61; 64)	46 (44; 47)*	62 (60; 63)@
Лимфоциты, %	7 (5; 8)	7 (5; 8)	3 (1; 4)*@
Макрофаги, %	5 (3; 6)	4 (2; 5)	3 (1; 4)
Нейтрофилы, %	0 (0; 1)	0 (0; 1)	0 (0; 2)

* $p \leq 0,05$ – при сравнении контрольной группы с группами полипропиленовых герниоимплантатов с рутиновым покрытием и покрытием рутин + аскорбиновая кислота, @ $p \leq 0,05$ при сравнении групп полипропиленовых герниоимплантатов с рутиновым покрытием и покрытием рутин + аскорбиновая кислота

Заключение

В результате гистологического исследования тканевой реакции использование герниоимплантата с покрытием рутин + аскорбиновая кислота выявило лучшее интегрирование с окружающими тканями, что выразалось в оптимальном формировании плотной соединительнотканной капсулы за счет раннего преобладания клеток

фибробластического ряда, которые способствовали стимуляции синтеза коллагена. Применение полипропиленового герниоимплантата с рутиновым покрытием и без него вызывает равную степень реактивности тканей.

Список литературы

1. Ribeiro W.G., Nascimento A.C., Ferreira L.B., Marchi D.D., Rego G.M., Maeda C.T., Silva G.B, Artigiani N.R, Torres O.M., Pitombo M.B. Analysis of tissue inflammatory response, fibroplasia, and foreign body reaction between the polyglactin suture of abdominal aponeurosis in rats and the intraperitoneal implant of polypropylene, polypropylene/polyglycaprone and polyester/porcine collagen meshes. 2021. vol. 36. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8428674/> (дата обращения 23.03.2023).
2. Лазаренко В.А., Иванов С.В., Иванов И.С., Розберг Е.П., Цуканов А.В., Попова Л.П., Тарабрин Д.В., Обьедков Е.Г. Соотношение типов коллагена в прогнозировании послеоперационных вентральных грыж // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2017. № 6. С. 33-36.
3. Ревিশвили А.Ш., Оловянный В.Е., Сажин В.П., Кузнецов А.В., Шелина Н.В., Овечкин А.И. Хирургическая помощь в Российской Федерации. М., 2022. 200 с.
4. Шемятовский К.А. Аспекты биосовместимости сетчатых эндопротезов, используемых при герниопластике: экспериментальное исследование. автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2017. 26 с.
5. Giuntoli G., Muzio G., Actis C., Ganora A., Calzone S., Bruno M., Ciardelli G., Carmagnola I., Tonda-Turo C. In-vitro Characterization of a Hernia Mesh Featuring a Nanostructured Coating. 2021. vol 8. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7856147/pdf/fbioe-08-589223.pdf> (дата обращения 23.03.2023).
6. Ашимов Ж.И., Динлосан О.Р., Айтиев У.А. Иммунологическая реактивность организма на имплантированные сетчатые эндопротезы, используемые при грыжах передней брюшной стенки // Бюллетень науки и практики. 2021. №4. С. 217-230.
7. Est S., Roen M., Chi T., Simien A., Castile R. M., Thompson D. M., et al. Multi-directional mechanical analysis of synthetic scaffolds for hernia repair. 2017.vol.71. P. 43-53.
8. Лазаренко В.А., Иванов С.В., Иванов И.С., Парфенов И.П., Горяинова Г.Н., Цуканов А.В., Иванова И.А., Обьедков Е.Г. Морфологические изменения в области имплантации эндопротеза "Parietene progrid" в зависимости от использования препарата "Солкосерил" // Курский научно-практический «Человек и его здоровье». 2016. № 3. С. 74-80.

9. Берещенко В.В., Лызикова А.Н., Надырова Э.А., Кондрачук А.Н. Сравнительная морфологическая характеристика реакции тканей экспериментальных животных на имплантацию модифицированных полипропиленовых сетчатых эндопротезов // Новости хирургии. 2021. № 6. С. 645-653.

10. Иванов С.В., Иванов И.С., Цуканов А.В., Гафаров Г.Н., Обьедков Е.Г. Влияние витамина С на динамику соотношения коллагена I и III типов в области имплантации герниопротеза у мышей // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2017. № 6. С. 33-36.