

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

<sup>1</sup>Военно-медицинский факультет в УО

«Белорусский государственный медицинский университет»,

<sup>2</sup>ГУО «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. Bogdan<sup>1</sup>, I.A. Shved<sup>2</sup>

**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 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.

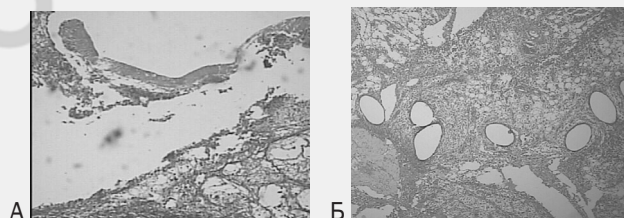
Статистическую обработку данных осуществляли с применением прикладного программного пакета «STATISTICA 6,0». Результаты представлены в формате Me (25-й; 75-й процентиля). Для сравнения динамики изменения показателя в исследуемых группах использовали критерий Уилкоксона для парных сравнений (Wilcoxon 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 сегментоядерными лейкоцитами (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).



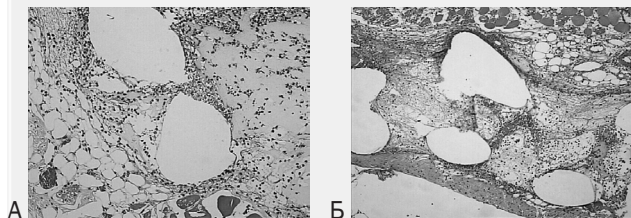
**Рис. 1.** Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой, 3 сутки; А – окраска MSB, x50, Б – окраска гематоксилином и эозином, x50

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

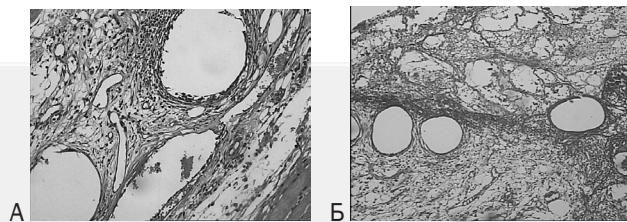
кон с цепочками незрелых фибробластов (0,5 (0,5-0,5) баллов). МСК ЖТ были распределены неравномерно и кучно, в основном, по краям визуализируемых ячеек хирургической сетки в виде цепочек, с формированием фибробластов (0,5 (0,5-0,5) баллов) в межглобулярных скоплениях стволовых клеток, без инициации инкапсуляции, 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 неангиогенеза (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.



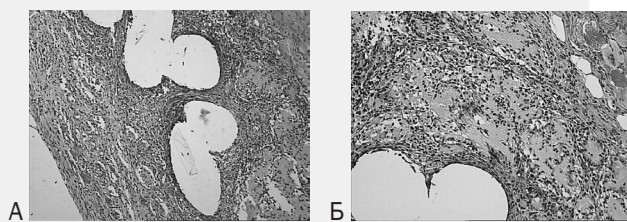
**Рис. 2.** Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой с МСК ЖТ в желатиновом матриксе, 3 сутки; А – окраска MSB,  $\times 200$ , Б – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$

**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 ( $p < 0,05$ ) тяжелей 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 ( $p > 0,05$ ) неангиогенеза (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,  $\times 100$

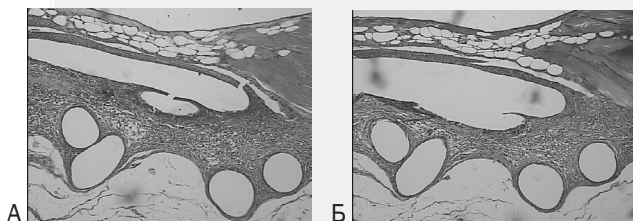
Изменения гистологической структуры препаратов в группе 1 на **7 сутки** наблюдения представлены на рис. 4. На фоне продолжающейся активной ( $p < 0,05$ ) резорбции геля до 1 (0,5-1) балла, отмечена начинающаяся редукция МСК до 0,5 (0,5-1) балла с их трансформацией предположительно в предшественники 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-волоконистой 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,  $\times 100$

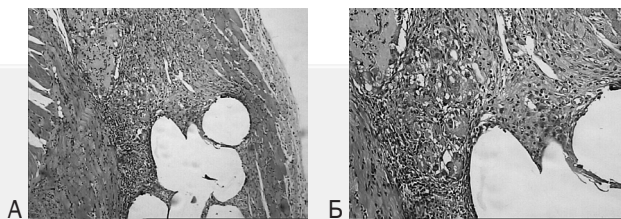
**На 14 сутки** в зоне имплантированной нерассасывающейся сетки (группа 1) определялась умеренно выраженная ( $p > 0,05$ ) инкапсуляция ячеек (1 (1-1) балл), с полным рассасыванием фибриновых наложений, объемные очаги ( $p > 0,05$ ) зреющей грануляционной ткани (2,5 (2-3) балла) с гомогенизацией межклеточного 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).



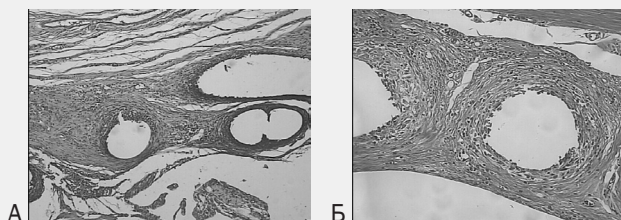
**Рис. 5.** Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой, 14 сутки; А – окраска MSB,  $\times 100$ , Б – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$

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-волоконистой 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 отечной 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).

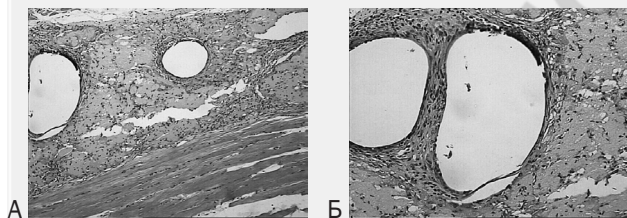


**Рис. 7.** Пластика передней брюшной стенки полипропиленовой хирургической сеткой, 28 сутки; А – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ , Б – окраска MSB,  $\times 200$

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

## Оригинальные научные публикации

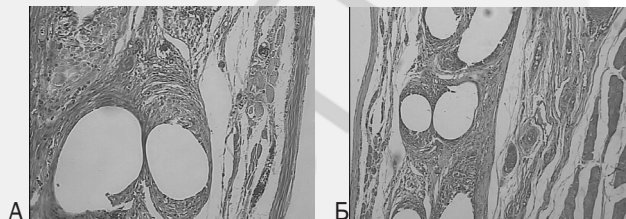
ния геля (2 (2-2) балла) и трансформации МСК ЖТ (2,5 (2-3) балла). Между инкапсулированными глобулами геля с очагами пролиферации ( $p < 0,05$ ) эпителиоидных клеток по периферии (2 (2-3) балла), на всем протяжении имплантата и вокруг ячеек сетки прослеживалось увеличение ( $p < 0,05$ ) малоклеточной 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,  $\times 200$

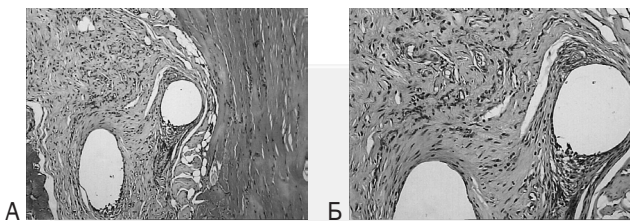
По завершению эксперимента на 60 сутки в зоне расположения имплантата из полипропилена сохранялась ( $p > 0,05$ ) преимущественно зрелая малоклеточная соединительная ткань (3 (3-3) балла). Отмечена выраженная инкапсуляция сетки и всех ячеек до 3 (3-3) баллов, слабая положительная динамика ( $p < 0,05$ ) 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», «Упро», «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. *Денисов, С. Д. 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.