

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ НА СООТНОШЕНИЕ КОЛЛАГЕНА I И III ТИПОВ В ТКАНЯХ ПАРАПРОТЕЗНОЙ КАПСУЛЫ У МЫШЕЙ

® И. С. Иванов, В. А. Лазаренко, С. В. Иванов, Г. Н. Горянинова, А. В. Иванов

Курский государственный медицинский университет;
электронный адрес: ivanov.is@mail.ru

В настоящее время обязательным условием хирургического лечения обширных и гигантских вентральных грыж является применение синтетических протезов. Нами проведено сравнительное исследование динамики соотношения коллагена I и III типов в тканях парапротезной области у мышей при использовании имплантатов из материала Эсфил (полиэтилена), Экофон (политетрафторэтилена) и Унифлекс (поливинилиденфторида) без введения фибробластов и при одно- и двукратном введение культивированных фибробластов в парапротезную область на разных временных сроках. При использовании окраски Sirius Red и поляризационной микроскопии выявлено, что на сроке до 10 сут после эндопротезирования введение фибробластов и кратность введения не влияют на соотношение типов коллагена. В более поздние сроки (30—60 сут) увеличивается содержание коллагена I типа при использовании всех материалов. Величина соотношения коллагена I и III типов максимальна на всех сроках эксперимента в случае использования эндопротеза Унифлекс. Экзогенные фибробlastы ускоряют увеличение соотношения коллагена I и III типов в большей степени при двукратном введении, чем однократном.

Ключевые слова: послеоперационная грыжа, коллаген I и III типов, поляризационная микроскопия, сетчатые эндопротезы, фибробласт, эндопротезирование.

Принятые сокращения: ПОВГ — послеоперационная вентральная грыжа, ТК — типы коллагена.

Лечение послеоперационных вентральных грыж (ПОВГ), и особенно рецидивных, а также грыж без предшествующей операции остается актуальной хирургической задачей, несмотря на использование всех способов хирургической коррекции, в том числе и лапароскопических методик. До конца XX в. наиболее применяемым способом пластики, особенно в малых периферийных клиниках, считалась аутогерниопластика. Существенным недостатком аутопластики является использование собственных скомпрометированных дряблых тканей, сшиваемых с натяжением, что неизбежно приводит к рецидивам (Тимошин и др., 2004; Дубова, Гостевской, 2008; Вольный, 2010; Велигоцкий и др., 2011; Henriksen et al., 1998).

Практика лечения ПОВГ доказывает, что в лечении больных с обширными и гигантскими грыжами, особенно рецидивными, эффективны только способы эндопротезирования. Пластика с использованием синтетических эндопротезов в настоящее время является общепризнанным методом лечения при ПОВГ передней брюшной стенки обширных и гигантских размеров. Наиболее эффективными способами пластики ПОВГ являются методики *sublay* и *inlay*. В условиях обширных и гигантских ПОВГ происходят существенные деформации мышечных и апоневротических структур передней брюшной стенки, что делает необходимым использование и пластики типа *on-lay*. Одной из основных проблем современной герниологии является изучение морфофункциональных особенностей

стей соединительной ткани в месте пластики. Отказ от использования аутопластических методик частично решил проблему дистрофии соединительной ткани в результате ее натяжения. Использование различных по структуре и химическому строению синтетических протезов, несмотря на их преимущества, приводит к возникновению специфических реакций на имплантацию иностранных тел — образованию сером и гематом, которые отрицательно влияют на процесс заживления и формирования соединительной ткани и увеличивают сроки лечения (Monteiro et al., 2007). При технически правильно выполненной операции и использовании синтетических эндопротезов при всех видах пластики более чем в 20 % случаев возникает рецидив заболевания. Все это указывает на несомненную актуальность изучения свойств и механизмов развития соединительной ткани в зоне пластики.

В настоящее время показано, что основную роль в развитии грыжевой болезни имеют нарушения коллагенового обмена и формирования соединительной ткани и как следствие — ее слабость к физическим нагрузкам. Нарушение коллагенового обмена и изменение соотношения коллагена I типа к III типу является важной причиной возникновения нарушений структурной целостности и механической прочности соединительной ткани (Дубова, 2008; Вольный, 2010; Rosch et al., 2003; Junge et al., 2004).

По данным некоторых авторов, нарушение соотношения коллагена типов I и III приводит к увеличению частоты возникновения и к рецидивам ПОВГ. Механическая прочность ряда анатомических образований (ослабление поперечной фасции и задней стенки пахового канала при паховых грыжах, апоневроза и белой линии живота при ПОВГ) прямо зависит от строения и соотношения типов коллагена, что необходимо учитывать при выборе метода и объема герниопластики (Broderick et al., 2011; Hebdal et al., 2011).

Нарушение синтеза коллагена, изменение соотношения коллагена I и III типов могут возникать из-за недостатка определенных аминокислот и других компонентов в месте операционной травмы. Для улучшения и ускорения процесса созревания функционально достаточной и прочной соединительной ткани перспективным методом является экзогенное введение клеточных элементов, участвующих в ее образовании. Одной из таких методик является введение экзогенных культивируемых эмбриональных фибробластов (Smith et al., 1997; Jansen et al., 2006; Vaz et al., 2009; Heybeli et al., 2010). Фибробласт является важным клеточным звеном, участвующим в восстановительных и регуляторных процессах. Экзогенные фибробlastы формируют углеводно-белковые комплексы основного вещества, коллагеновые, ретикулиновые и эластические волокна, оказывают стимулирующее влияние на пролиферацию других клеток и формируют пространственную структуру соединительной ткани, что можно визуализировать при использовании окраски Sirius Red и поляризационной микроскопии (Кактурский, Селезнева и др., 1996).

Экзогенные эмбриональные фибробласты уже давно используются в практической хирургии. Хирургия ПОВГ предполагает использование фибробластов в условиях неинфекцированной раны. Потенцирующее пролонгированное влияние эмбриональных фибробластов на тканевые репаративные процессы и низкая иммуногенность очень важны при пластике с использованием синтетических протезов. Введение эмбриональных фибробластов позволяет ускорить процесс формирования зрелой соединительной ткани на более ранних сроках, положительно влияя при этом на структуру и прочность рубца (Smith et al., 1997; Jansen et al., 2006; Heybeli et al., 2010). Поэтому применение аллогенных эмбриональных фибробластов представляет несомненный интерес при эндопротезировании ПОВГ передней брюшной стенки и является перспективной методикой для модификации процесса организации соединительной ткани.

Цель настоящей работы — изучение влияния экзогенных эмбриональных фибробластов на динамику соотношения коллагена I и III типов в парапротезной капсуле у мышей. Определяли величину соотношения коллагена I и III типов в зависимости от применяемого типа протеза и влияние на эту величину аллогенных культивируемых фибробластов и места их введения.

Материал и методика

Работа выполнена на 450 белых мышах. Стерильный протез (1×0.5 см) располагали только над мышечно-апоневротическим слоем, имитируя пластику ПОВГ только типа onlay. Использовали участки стандартных протезов (от фирм в Санкт-Петербурге) из полипропилена (Эсфил от фирмы Линтекс), политетрафторэтилена (Экофон от

фирмы Экофон) и из поливинилиденфторида (Унифлекс от фирмы Линтекс), широко применяемые в герниологии в России. Эндопротезы Эсфил и Унифлекс представляют собой плетеные материалы из монофираментных нитей. Протез Экофон изготовлен в виде пленки с перфорационными отверстиями для пришивания. Он состоит из 3 слоев: центрального непористого структурного слоя, обеспечивающего прочностные характеристики, и внешних пористых слоев.

Животных делили на 3 группы. Животным контрольной группы (1) фибробласты в область протеза не вводили. Второй группе животных через 7 сут с момента эндопротезирования брюшной стенки в область над имплантатом однократно вводили культивируемые фибробласты. Животным 3-й группы фибробласты вводили двукратно — через 7 и 10 сут после эндопротезирования. Указанные сроки введения фибробластов выбраны с учетом стадийности воспалительного процесса.

Аллогенные фибробласты выделяли из эмбрионов белых мышей на сроке беременности мыши 2—4 нед. Эмбрионы помещали в среду 199 с антибиотиками (1000 ед./мл пенициллина, 1000 мкг/мл стрептомицина и 4 мкг/мл амфотерицина В) и доставляли в Лабораторию Отделения клеточной трансплантации и иммунотерапии Курской областной клинической больницы через 2 ч после забора. После экспозиции в среде 199 с антибиотиками в течение 4 ч при 4°C эмбрионы промывали стерильным раствором Хенкса. Фрагменты конечностей и туловища эмбриона измельчали ножницами до получения кусочков размером 1—2 мм^3 , а затем помещали в 0.25%-ный раствор трипсина (Serva, США), подогретый до 37°C . Трипсинизацию проводили при 37°C в течение 20 мин при постоянном перемешивании.

По окончании трипсинизации к раствору трипсина добавляли сыворотку крупного рогатого скота (СКРС) для блокирования фермента, клеточную суспензию отбирали в стерильные пробирки и центрифугировали при 1000 об/мин (120 g) в течение 10 мин. Осадок клеток ре悬浮ировал в среде 199, содержащей 10 % СКРС, и высевали в культуральные матрасы. Через 48 ч производили смену среды. Выросший через 7—10 сут клеточный монослой снимали с подложки раствором Хенкса, содержащим 0.05 % трипсина и 0.02 % ЭДТА, подогретым до 37°C . Открепившиеся от подложки клетки собирали в центрифужные пробирки и осаждали центрифугированием при 1000 об/мин (120 g) в течение 10 мин при комнатной температуре. Осевшие клетки трижды отмывали средой 199. Затем клетки подсчитывали и засевали в культуральные флаконы. Фибробласты культивировали на полной среде RPM 1640, содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, до формирования монослоя. Полученный клеточный монослой снимали с подложки раствором Хенкса, центрифугировали и трижды промывали физиологическим раствором, после чего вводили в парапротезное пространство.

Независимо от введения фибробластов забой животных осуществляли на 10, 30 и 60-е сут. Исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (Страсбург, Франция, 1986). Использовали участок передней брюшной стенки с имплантатом размером 1.5×1 см. Полученный макропрепаратор помещали в 10%-ный раствор формалина, затем заключали его в парафиновый блок. Из полученных блоков изготавливали срезы 4—5 мкм, окра-

шивали пикросириусом красным (Sirius Red). Срезы исследовали в обычном и поляризованном свете с помощью поляризационного микроскопа Altami Polar 2, используя увеличения объектива $10\times$, $25\times$ и $40\times$. Микроскопию в обычном свете осуществляли без дополнительной окраски препаратов. Фотосъемку микропрепараторов осуществляли с использованием цифровой окулярной камеры Altami 3 Мpx. Снимали 10 полей зрения при различном увеличении.

Оценка соотношения типов коллагена (величина соотношения ТК) основывается на различиях в цветовой гамме, характерной для каждого типа и переходных форм: I тип коллагена — красный, III тип коллагена — зеленый. Соотношение коллагена I и III типов определяли по цветовой гистограмме выбранного участка в каждом поле зрения, используя программные комплексы Altami Studio 3.0 и ImageJ 1.46h. Абсолютные значения красного и зеленого цветов спектра для каждого поля зрения (участков капсулы с обеих сторон на всех сроках и парапротезного пространства на ранних сроках) переводили в относительные из-за ограниченных для измерений размеров капсулы, а далее рассчитывали величину соотношения ТК. Изучение типов коллагена производили непосредственно в области капсулы эндопротеза или в патратрансплантатном пространстве. В экспериментах с введением экзогенных фибробластов оценка соотношения ТК основывалась на анализе показателей, получаемых при исследовании капсулы или патратрансплантатного пространства, ориентированных к кожным покровам, т. е. к стороне введения фибробластов. Это делали по причине существенных различий в условиях формирования и созревания соединительной ткани, и в соотношении ТК при введении и без введения экзогенных фибробластов, и в пространственной ориентации протеза (кожа, апоневроз). Полученные результаты проводили с помощью программ StatPlus 2006 и Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Эндопротезирование без введения фибробластов. Величина соотношения ТК при использовании всех эндопротезов во всех сериях экспериментов на сроке 10 сут стремится к 1, т. е. в соединительнокапсулой имеет место равное содержание коллагена I и III типов, что говорит об отсутствии влияния материала эндопротеза и введенных фибробластов на созревание соединительной ткани в капсуле и парапротезном пространстве на ранних сроках. Необходимо упомянуть об эффекте «разреженных» тканей при поляризационной микроскопии за счет того, что часть тканей, особенно на ранних сроках, не визуализируется. Поэтому следует учитывать, что нити протеза не находятся в свободном пространстве, а окружены тканями, невидимыми при использовании поляризационной микроскопии (рис. 1). Исследование динамики соотношения коллагенов наглядно демонстрирует увеличение содержания коллагена I типа к 30-м сут после протезирования, что приводит к увеличению данного показателя с 1 до 1.45 при использовании протеза Унифлекс. При использовании эндопротезов Эсфил и Экофон отмечается синхронное и одинаковое повышение величины этого соотношения до 1.19 и 1.21 соответственно (рис. 2). Одним из главных результатов применения поляризационной микроскопии является возможность определения различий между структурами, ко-

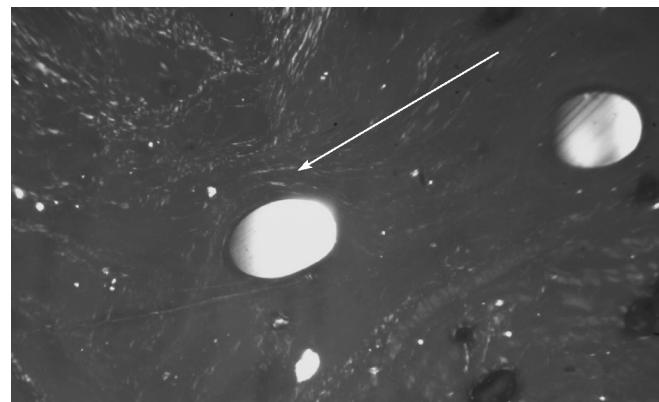


Рис. 1. Гистологическая структура ложа трансплантата Унифлекс на 10-е сут после эндопротезирования (без введения фибробластов).

Низкая плотность зрелых соединительнокапсуловых волокон в парапротезном пространстве. Стрелка указывает на отсутствие четко структурированной капсулы вокруг нитей протеза. Поляризационная микроскопия. Окраска Sirius Red. Об. 10 \times .

торые при обычной световой микроскопии обнаружить трудно или невозможно. Для нашего исследования влияния синтетических протезов и экзогенных фибробластов на соотношение типов коллагена в капсule вокруг эндопротеза принципиальным является выявление структуры и состава соединительной ткани капсул, что должно определять его прочность и способность противостоять механическим нагрузкам (предотвращать рецидив ПОВГ, если иметь в виду человека). При исследовании капсул вокруг протезов на ранних сроках было выявлено несоответствие между толщиной капсул и доли коллагена I типа: при сопоставимых размерах и толщине капсул прочностные свойства, основанные на величине соотношения ТК, существенно различаются, что при обычной световой микроскопии выявить невозможно. Толщина капсул на 60-е сут при использовании протеза Экофон без введения экзогенных фибробластов достаточна, для того чтобы говорить о завершившемся процессе ее формирования. Однако поляризационная микроскопия указывает на то, что коллаген I типа определяется не по всему сечению капсул.

К 60-м сут очевидной становится разница между полученными результатами для протеза Унифлекс, с одной

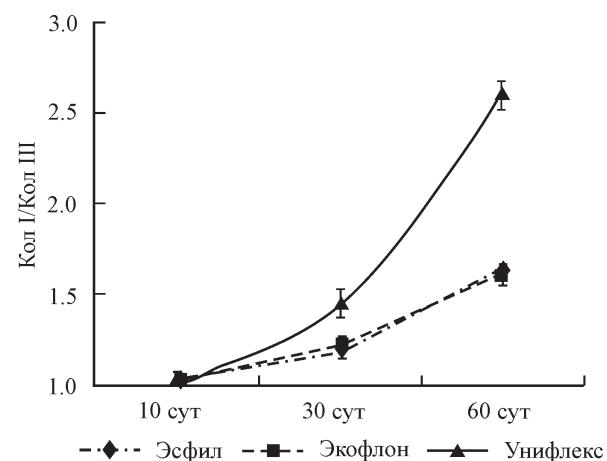


Рис. 2. Соотношение коллагена I и III типов (Кол I/Кол III) в тканях парапротезной капсулы без введения фибробластов.

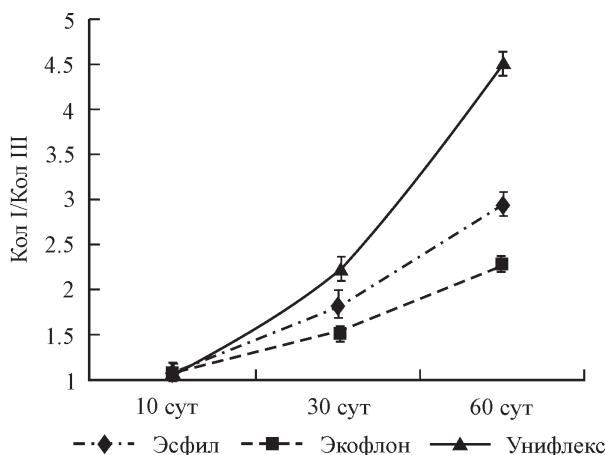


Рис. 3. Соотношение коллагена I и III типов (Кол I/Кол III) в тканях парапротезной капсулы при однократном введении экзогенных фибробластов на 7-е сут.

стороны, и протезов Экофон и Эсфил — с другой. Причем полученные результаты с использованием этих протезов на протяжении всего периода контрольного эксперимента (без введения фибробластов) оказались сходными. Величина соотношения ТК в случае Унифлекса к 60-м сут составляет 2.6, для Эсфила и Экофлона — 1.63 и 1.6 соответственно. Все это указывает на превышение более чем в 1.5 раза показателя соотношения ТК в пользу коллагена I типа для эндопротеза Унифлекс по сравнению с протезами Экофон и Эсфил.

Таким образом, изменение соотношения ТК в формирующейся соединительной ткани при заживлении послеоперационной раны после эндопротезирования указывает на прогрессивное увеличение содержания коллагена I типа уже к 30-м сут после протезирования. К 60-м сут величина соотношения ТК для материала Унифлекс увеличивается более чем в 1.5 раза по сравнению с Эсфилом и Экофоном. Все это указывает на более благоприятную тенденцию изменения соотношения ТК в пользу повышения

ния коллагена I типа при использовании протеза Унифлекс.

Введение фибробластов на 7-е сут после протезирования. На начальных сроках после протезирования (10 сут) соотношение ТК равно 1, т. е. однократное введение экзогенных фибробластов не оказывает никакого эффекта на изменение соотношения ТК из-за малого срока их присутствия (рис. 3).

Процентное соотношение ТК у животных, которым однократно вводили фибробlastы на 7-е сут, имеет тенденцию к неуклонному повышению за счет содержания коллагена I типа и синхронному снижению содержания коллагена III аналогично динамике в случае протезирования без введения фибробластов. Введение экзогенных фибробластов на 7-е сут не оказывает к 10-м сут статистически достоверного эффекта на состав формирующейся соединительной ткани: соотношение ТК составляет 1 для всех материалов. Однако в некоторых случаях отмечаются участки повышенного содержания коллагена I типа, чего в препаратах контрольной серии не наблюдали. Данные участки паратрансплантатного пространства ограничены и не оказывают влияния на усредненные значения, однако указывают на тенденцию динамики результатов к 30-м и 60-м сут эксперимента. Структура соединительнотканых волокон капсулы парапротезной области в этой серии экспериментов остается разреженной, существенно не отличаясь от препаратов 1-й серии на данном сроке. Использование различных по химическому составу и структуре эндопротезов не влияет на структуру тканей паратрансплантатной зоны.

К 30-м сут отмечается существенное увеличение соотношения ТК при использовании протеза Унифлекс. Показатели величины ТК при использовании материалов Экофон и Эсфил ниже, причем наименьшие величины отмечены для Экофлона, что связано с его нетканой пористой структурой, которая, во-первых, элиминирует часть экзогенных фибробластов, а во-вторых, имеет суммарную меньшую площадь контакта. Однако необходимо отметить, что величины соотношения ТК при ис-

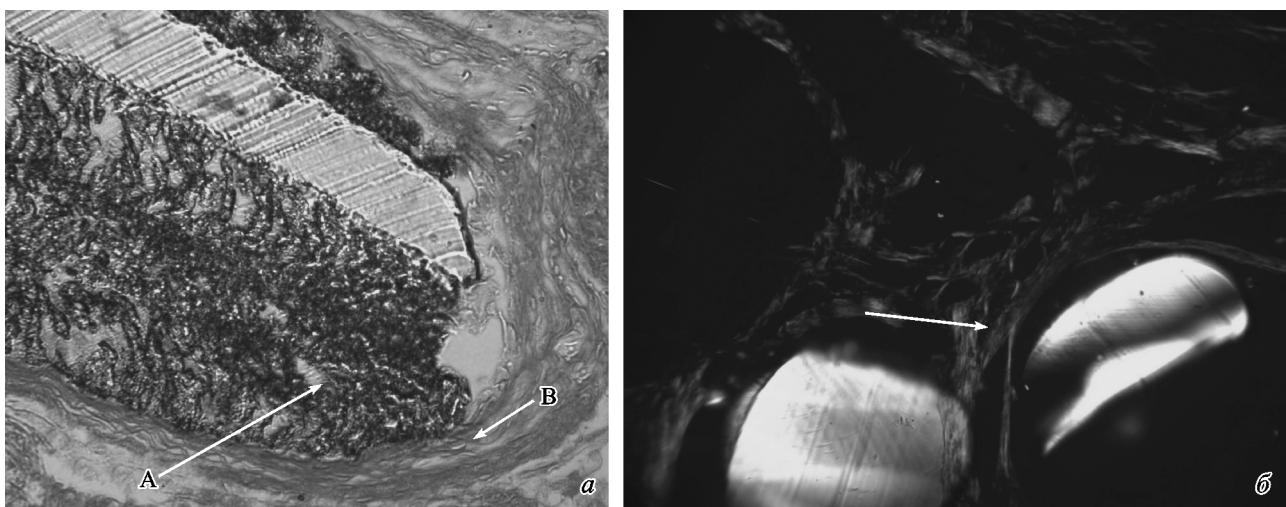


Рис. 4. Гистологическая структура паратрансплантатного пространства после протезирования материалами Экофон (а) и Унифлекс (б) при однократном введении экзогенных фибробластов на 7-е сут.

а — 30-е сут после эндопротезирования: А — участки протеза с депонированными экзогенными фибробластами, — сформированная соединительнотканная капсула вокруг протеза; световая микроскопия. б — 60-е сут после протезирования, стрелка указывает на участок капсулы с превалированием коллагена I типа; поляризационная микроскопия. Окраска Sirius Red. Об. 25×.

пользовании Экофлона к 30-м сут сопоставимы с величинами для этого же материала к 60-м сут в контрольной серии экспериментов (без введения фибробластов). В случае протезов Эсфил и Унифлекс данная тенденция еще более выражена. В отличие от результатов контрольной серии отсутствует синхронность изменений соотношения ТК для материалов Эсфил и Экофон к 30-м сут, а к 60-м сут данный показатель ТК у животных с имплантацией протеза Эсфил в 1.3 раза превышает показатель для Экофлона. Величина соотношения ТК при имплантации Унифлекса достигает к 60-м сут 4.5, что в 1.5 раза выше этой величины для Эсфила и в 2 раза выше для Экофлона.

Соединительнотканная капсула вокруг эндопротеза в серии с однократным введением фибробластов к 30-м сут представляет собой структурированное образование, надежно ограничивающее протез от подлежащих тканей (рис. 4, а). Однако поляризационная микроскопия демонстрирует неоднородность тканей капсулы по соотношению ТК.

При однократном введении экзогенных фибробластов величина соотношения коллагена I и III типов в паратранзитной капсуле на 30-е сут сопоставима с данным показателем в контрольной серии (без введения фибробластов) на 60-е сут (рис. 4, б). По сравнению с контрольной серией в данных экспериментах к 60-м сут отмечается существенное увеличение величины соотношения ТК при использовании всех типов эндопротезов при сопоставимой с животными в серии без введения фибробластов толщине капсул. По нашему мнению, это свидетельствует о развитии более прочной соединительной ткани в области имплантации при однократном введении фибробластов.

Введение фибробластов на 7-е и 10-е сут после протезирования. Соотношение ТК в случае двукратного введения фибробластов, так же как и в предыдущих сериях, к 10-м сут после имплантации протеза стремится к 1. Ни однократное, ни двукратное введение фибробластов на столь коротком временном промежутке не позволяют получить увеличение содержания коллагена I типа по сравнению с контрольной серией без введения фибробластов (рис. 5).

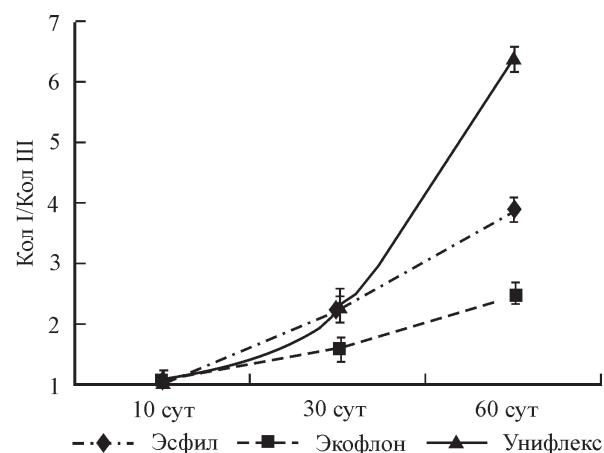


Рис. 5. Соотношение коллагена I и III типов (Кол I/Кол III) при двукратном введении фибробластов на 7-е и 10-е сут.

Однако имеются различия в строении тканей в паратранзитной зоне в разных сериях эксперимента. Некоторая «воздушность» и разреженность тканей на 10-е сут исследования, характерная для контрольной серии экспериментов, сменяется большей плотностью волокон соединительной ткани, видимых с помощью поляризационной микроскопии в экспериментах с двукратным введением фибробластов. Капсула вокруг нитей протеза в этом случае достоверно толще, что указывает на пролиферативную роль экзогенных фибробластов в формировании соединительной ткани в послеоперационном периоде (рис. 6, а). К 30-м сут эксперимента содержание коллагена I типа увеличивается, при этом результаты для материалов Эсфил и Унифлекс не различаются. Показатели у животных с имплантацией материала Экофон, как и в других экспериментальных сериях, ниже и не отличаются от показателей для эндопротеза Экофон в случаях с однократным введением фибробластов (во 2-й группе животных). Только значения соотношения ТК для Эсфила выше, чем аналогичные показатели для этого же материала во 2-й группе. Таким образом, на 30-е сут после протезирования разница между эффек-

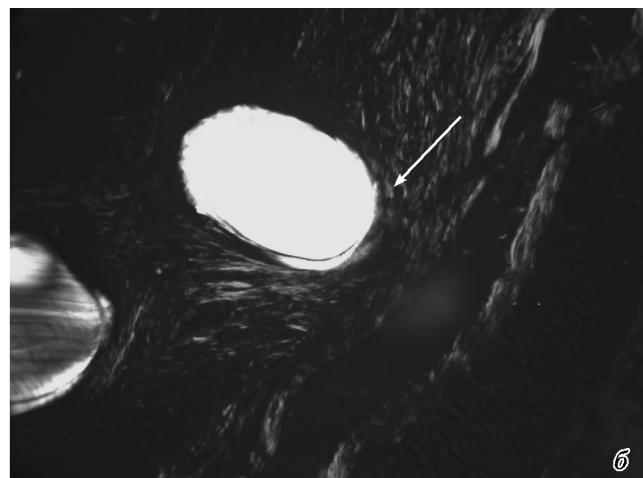
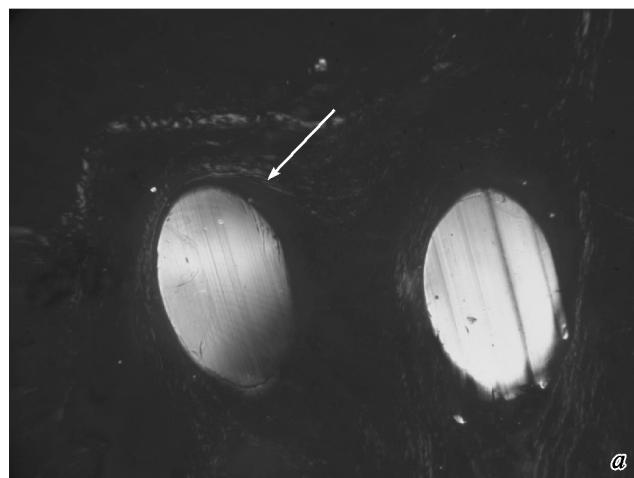


Рис. 6. Гистологическая структура паратрансплантатного пространства после протезирования материалами Эсфил (а) и Унифлекс (б) при двукратном введении экзогенных фибробластов на 7-е и 10-е сут.

а — 10-е сут после эндопротезирования. Стрелка указывает на формирующуюся капсулу вокруг нитей эндопротеза; б — 60-е сут после эндопротезирования. Стрелка указывает на выраженную капсулу вокруг нитей эндопротеза; поляризационная микроскопия. Окраска Sirius Red. Об. 25×.

тами двукратного и однократного введений фибробластов наблюдается только в случае использования Эсфила.

К 60-м сут в этой серии эксперимента значения соотношения ТК, указывающие на увеличение содержания коллагена I типа, достигают абсолютных максимумов. Однако повышение соотношения ТК при использовании эндопротеза Экофлон минимально и находится у границы статистической достоверности. Эти же показатели при имплантации материалов Эсфил и Унифлекс указывают на резкий рост содержания коллагена I типа и снижение коллагена III типа. К 60-м сут соотношение ТК для Эсфила в этих случаях в 1.3 раза выше, чем в предыдущих случаях с однократным введением фибробластов в эти же сроки. Для материала Унифлекс это превышение еще больше — в 1.4 раза. На гистологических препаратах на этом сроке вокруг эндопротеза регистрируются максимальная толщина капсулы, однородность структуры и плотно прикрепленные к ней подлежащие ткани (рис. 6, б).

Поляризационная микроскопия в этой серии в случае имплантации нетканого протеза Экофлон выявляет определенную особенность в распределении коллагена I типа. На участках капсулы, прилегающих непосредственно к эндопротезу, определяется максимальное количество волокон с преимущественным содержанием коллагена I типа. Подобное распределение, по нашему мнению, связано с депонированием большого количества фибробластов в порах эндопротеза на начальных этапах эксперимента при их двукратном введении. На более поздних этапах эксперимента депонированные фибробlastы служат субстратом для максимального повышения содержания коллагена I типа.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать следующие выводы.

1. Поляризационная микроскопия позволяет судить о толщине соединительной капсулы и ее структурных особенностях, зависящих от типа эндопротеза, времени после протезирования, и присутствия экзогенных фибробластов, не определяемых стандартной световой микроскопией.

2. Введение фибробластов в парапротезную область позволяет модифицировать процесс созревания соединительной ткани и постепенно увеличивать содержание коллагена I типа в парапротезной капсуле; увеличение зависит от кратности введения фибробластов.

3. Введение экзогенных фибробластов в парапротезную область приводит к достоверному повышению содержания коллагена I типа со стороны протеза, обращенной к месту введения. На противоположной стороне этот процесс замедлен. В большей степени это относится к нетканому эндопротезу Экофлон, структура которого препятствует попаданию фибробластов к стороне протеза, обращенной к апоневрозу.

4. При использовании материала Экофлон происходит депонирование экзогенных фибробластов. Фибробласты, попадающие в поры эндопротеза, не могут «участвовать» в процессе созревания соединительной ткани, что ограничивает абсолютное число клеток и снижает их модифицирующее влияние на процесс изменения соотношения ТК вокруг эндопротеза.

5. На начальных сроках эксперимента независимо от присутствия экзогенных фибробластов и материала эндопротеза соотношение ТК стремится к 1. Максимальное соотношение ТК в пользу коллагена I типа происходит на

60-е сут после протезирования с использованием материала Унифлекс, минимальное — при использовании материала Экофлон.

Список литературы

- Велигоцкий Н. Н., Комарчук В. В., Комарчук Е. В., Касумба К. 2011. Хирургическое лечение грыж на фоне диспазии соединительной ткани. Укр. хирургич. журнал. 3 (12) : 236—239.
- Вольный С. В. 2010. Клинико-морфологические особенности паховых грыж в свете нарушений коллагенового обмена: Автореф. канд. дис. М. 20 с.
- Гостевской А. А. 2008. Обоснование и оценка эффективности новых материалов и методов в лечении послеоперационных вентральных грыж: Автореф. канд. дис. СПб. 16 с.
- Дубова Е. А. 2008. Морфологическая характеристика тканевой реакции при имплантации сетчатых эндопротезов: Автореф. канд. дис. М. 20 с.
- Кактурский Л. В. 1996. Поляризационная микроскопия. Микроскопическая техника. М.: Медицина. 116 с.
- Селезнева И. И., Кузьмин С. В., Николаева Т. И., Рочев Ю. А. 1996. Применение поляризационной термомикроскопии для регистрации процессов формирования и деградации коллагеновых фибрилл. Биофизика. 41 (2) : 541—542.
- Тимошин А. Д., Юрьев А. В., Шестаков А. Л. 2004. Концепция хирургического лечения послеоперационных грыж передней брюшной стенки. Герниология. 1 : 5—10.
- Broderick G., McIntyre J., Noury M., Strom H. M., Psoinos C., Christakas A., Billiar K., Hurwitz Z. M., Lalikos J. F., Ignotz R. A. 2011. Dunn R. M. Dermal collagen matrices for entral hernia repair: comparative analysis in a rat model. Hernia. 2 : 103—107.
- Hebda P. A., Dohar J. E. 1999. Transplanted fetal fibroblasts: survival and distribution over time in normal adult dermis compared with autogenic, allogenic, and xenogenic adult fibroblasts. Otolaryngol. Head Neck Surg. 121 : 245—251.
- Henriksen N. A., Yadete D. H., Sorensen L. T., Agren M. S., Jorgensen L. N. 2011. Connective tissue alteration in abdominal wall hernia. Br. J. Surg. 98 : 210—219.
- Heybeli T., Kulacoglu H., Genc V., Ergul Z., Ensari C., Kiziltay A., Yilmazer D., Serbetci K., Hasirci N. 2010. Basic fibroblast growth factor loaded polypropylene meshes in repair of abdominal wall defects in rats. Chirurgia (Bucur). 105 : 809—816.
- Jansen P. L., Rosch R., Rezvani M., Mertens P. R., Junge K., Jansen M., Klinge U. 2006. Hernia fibroblasts lack β-estradiol induced alterations of collagen gene expression. BMC Cell Biol. 7 : 36—43.
- Junge K., Klinge U., Rosch R., Mertens P. R., Kirch J., Klostertalben B., Lynen P., Schumpelick V., Langenbecks A. 2004. Decreased collagen type I/III ratio in patients with recurring hernia after implantation of alloplastic prostheses Arch. Surg. 389 (1) : 17—22.
- Monteiro A., Berger E., Monteiro O. jr., Alonso P., Stavale J., Gonçalves M. 2007. Quantitative and qualitative analysis of collagen types in the fascia transversalis of inguinal hernia patients. Arq. Gastroenterol. 44 : 177—182.
- Rosch R., Junge K., Knops M., Lynen P., Klinge U., Schumpelick V. 2003. Analysis of collagen-interacting proteins in patients with incisional hernias. Langenbeck's Archives of Surgery. 387 : 427—432.
- Smith R. S., Smith T. J., Bliden T. M., Phipps R. P. 1997. Fibroblasts as sentinel cells. Synthesis of chemokines and regulation of inflammation. Amer. J. Pathol. 151 : 317—322.
- Vaz M., Krebs R. K., Trindade E. N., Trindade M. R. 2009. Fibroplasia after polypropylene mesh implantation for abdominal wall hernia repair in rats. Acta Cir. Bras. 24 : 19—25.

**INFLUENCE OF EXOGENOUS EMBRYONIC FIBROBLASTS ON COLLAGEN TYPE I
AND TYPE III RATIO IN THE TISSUES OF PARAPROSTHETIC CAPSULE
(EXPERIMENTAL WORK)**

I. S. Ivanov, V. A. Lazarenko, S. V. Ivanov, G. N. Goryainova, A. V. Ivanov

Kursk State Medical University;
e-mail: ivanov.is@mail.ru

Nowadays, the use of synthetic prosthesis is obligatory method in surgical treatment of large and giant ventral hernias. We have fulfilled comparative investigation of the dynamics of collagen Type I to Type III ratio in paraprosthetic region in mice when using implants, Esphyll — polyethylene, Ecophlon — polytetrafluorethylene, and Uniflex — polyvinylidenefluoride, with a one- and two-time introduction of cultured fibroblasts into paraprosthetic region at different times after implantations and without the introduction. Use of Sirius Red dye staining and polarization microscopy revealed that, in short period (10 days after endoprosthesis implantation), the implication of fibroblasts and the number of implications did not affect the collagen Types ratio. In later stages (30—60 days after endoprosthesis implantation) a significant increase in collagen Type I was observed when using all the materials. The ratio of collagen Type I to Type III was maximal at all stages of the experiment in the case of the implant Uniflex. Double implication of exogenous fibroblasts accelerated the increase in the collagen Type I to Type III ratio to a greater extent.

Key words: post operation hernia, collagen Types I and III, polarization microscopy, net endoprosthesis, fibroblasts.