

ВЛИЯНИЕ ТИТАНОВОГО ПОКРЫТИЯ НА БИОСОВМЕСТИМОСТЬ СЕТЧАТЫХ ЭНДОПРОТЕЗОВ ИЗ ПОЛИПРОПИЛЕНА

© И. И. Бабиченко,^{1,*} А. А. Казанцев,² Д. Л. Титаров,¹ К. А. Шемятовский,¹
Н. М. Гевондян,³ Д. С. Мельченко,² А. И. Алехин²

¹Российский университет дружбы народов, Москва, 117198,

²Центральная клиническая больница РАН, Москва, 117593, и

³Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и
Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, 117197;

* электронный адрес: babichenko@list.ru

С помощью иммуногистохимического выявления белка Ki-67 и поляризационной микроскопии проведен сравнительный анализ пролиферативной активности клеток воспалительного инфильтрата и распределения коллагена I и III типов в гранулемах, формирующейся в области контакта сетчатых материалов из полипропилена (PP Std Light) и титанизированного полипропилена (TiMesh) с соединительной тканью. Имплантацию сетчатых материалов проводили в мягкие ткани поясничной области крыс. На 7-е сут после операции количество пролиферирующих клеток, выявляемых с помощью антител к белку Ki-67, было ниже вокруг имплантатов из стандартного полипропилена (PP Std Light), чем из титанизированного (TiMesh) (соответственно 29.1 ± 5.7 и 33.6 ± 3.1 %, $p < 0.001$). Аналогичные различия были выявлены и на 30-е сут после начала эксперимента (соответственно 15.9 ± 4.3 и 26.9 ± 3.6 %, $p < 0.001$). Выявление разных типов коллагеновых волокон в гранулемах вокруг имплантированных сетчатых материалов проводили в поляризационном свете на срезах, окрашенных Sirius red. На 7-е сут после операции соотношение коллагеновых волокон I и III типов в гранулемах вокруг материалов PP Std Light составляло 1.085 ± 0.022 , вокруг материалов TiMesh это соотношение было выше — 1.107 ± 0.013 ($p = 0.017$). На 30-е сут после операции соотношение коллагеновых волокон I и III типов коллагена увеличивалось и составляло соответственно 1.174 ± 0.036 и 1.246 ± 0.102 ($p = 0.045$). На основании полученных результатов можно утверждать, что титановое покрытие, нанесенное на полипропилен, способствует процессам формирования коллагена I типа и более зрелой соединительной ткани вокруг сетчатого эндопротеза.

Ключевые слова: сетчатые материалы, полипропилен, титанизированный полипропилен, Ki-67, коллаген I и III типов.

Несмотря на удовлетворительные ближайшие результаты применения синтетических сетчатых эндопротезов, в литературе все чаще описываются факты их конфликта с тканями организма в отдаленном периоде. Данное явление проявляется в виде незазудящего асептического воспаления и как следствие — в виде чувства дискомфорта, хронической боли или даже отторжения материала (Паршиков и др., 2011б). Одним из путей повышения биосовместимости сетчатых эндопротезов является разработка титаносодержащих сетчатых материалов, в которых титан или его соединения выступают в качестве контактной поверхности эндопротеза с прилегающими тканями организма (Чернов и др., 2012; Сарбаева и др., 2013). Наиболее распространенными материалами этой группы являются титановые или покрытые титаном полипропиленовые сетчатые эндопротезы (Паршиков и др., 2011а; Schopf et al., 2011; Колпаков, Казанцев, 2015).

Однако до сих пор остается открытым вопрос о биологическом воздействии инородных материалов на ткани. Ряд авторов указывает на благоприятные эффекты сетчатых эндопротезов в тканях в условиях слабой воспа-

лительной реакции на фоне применения блокаторов дегрануляции тучных клеток (Orenstein et al., 2010). Высказываются также предложения о возможном повышении биосовместимости тканей путем уменьшения интенсивности воспалительной реакции за счет применения сетчатых эндопротезов с тонкими филаментами и крупными порами (Orenstein et al., 2012). Это связано с тем, что выраженная воспалительная реакция на инородное тело приводит к снижению образования коллагена и слабой интеграции сетчатых материалов в ткани (Pascual et al., 2012). Данные других авторов свидетельствуют о том, что более выраженная воспалительная реакция способствует более прочному взаимодействию имплантата с тканями (Pereira-Lucena et al., 2010, 2014; Иванов и др., 2012). В связи с этим встает вопрос о взаимосвязи интенсивности воспалительной реакции и процессами формирования зрелого коллагена. При этом для оценки тканевой реакции используют самые различные показатели: морфологические особенности гранулем (Klinge et al., 2014), количество макрофагов (Garcia-Moreno et al., 2015), содержание биологически активных веществ и

пролиферативная активность клеток (Jacob et al., 2012; Müller-Stich et al., 2014), экспрессия генов воспалительных цитокинов и факторов роста (Asarias et al., 2011).

Между характером воспалительного процесса и наличием соединительной ткани вокруг сетчатого материала существует четкая взаимосвязь (Klosterhalfen, Klinge, 2013). Основным компонентом соединительнотканного рубца является коллаген. В подобных случаях формируется зрелый плотный коллаген I типа или незрелый коллаген III типа (García-Moreno et al., 2015). Соотношение коллагена I и III типов выше 3 является индикатором успешного формирования соединительной ткани. Клостерхалфен и Клинге (Klosterhalfen, Klinge, 2013) с применением иммуногистохимического метода изучили 623 клинических случая осложнений при применении сетчатых эндопротезов и в 70 % случаев продемонстрировали снижение соотношения коллагена I и III типов в соединительной ткани, что указывает на нарушения заживления раны. Подобные исследования соотношения разных типов коллагена при имплантации различных сетчатых материалов можно проводить при помощи микроскопии в поляризованном свете после окраски Sirius red (Junqueira et al., 1978; Pascual et al., 2015).

Задачей настоящего исследования являлась оценка пролиферативной активности клеток воспалительного инфильтрата в области имплантации сетчатых материалов из полипропилена и титанизированного полипропилена при помощи иммуногистохимического метода, а также характеристика типов коллагена в формирующейся соединительной ткани с использованием поляризационной микроскопии тканей, окрашенных Sirius red.

Материал и методика

Эксперименты проводили на 20 белых беспородных крысах обоего пола массой 250 г, которым имплантировали сетчатые материалы размером 1.5×1.5 см в мягкие ткани поясничной области. Работа проведена в полном соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18 марта 1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15 июня 2006 г.).

Операции ($n = 20$) проводили в условиях общей анестезии нембуталом (внутрибрюшинно, 30 мг/кг). В ходе операций в первой группе (10 животных) использовали сетки из стандартного полипропилена (PP Std Light, толщина сетки — 380 мкм, нить — 90 мкм, удельный вес — 62 г/м²), во второй (10 животных) — эндопротезы, которые были изготовлены из полипропилена (TiMesh, толщина 300 мкм, нить — 90 мкм, удельный вес — 35 г/м²) с тонким поверхностным слоем титана, нанесенным с помощью технологии PACVD (plasma-activated chemical vapor deposition).

На 7-е и 30-е сут после операции животных выводили из эксперимента (по 5 крыс с сетчатым материалом PP Std Light и TiMesh) путем воздушной эмболии (7 мл/кг), которую осуществляли в условиях общей анестезии препаратами рометар (2 мг/кг) и золетил (8 мг/кг), вводимыми внутримышечно. Имплантаты извлекали путем рассечения кожи и прилегающих мягких тканей с отступлением от края имплантата 1—2 см.

Фронтальные срезы тканей с подшитыми сетчатыми материалами фиксировали в 10%-ном забуференном фор-

малине (pH 7.4) в течение 24 ч, после проводки на гистопроцессоре карусельного типа STP 120 Thermo scientific и станции заливки EC-350 Thermo scientific заливали в парафин с температурой плавления 54 °С. Затем изготавливали серийные срезы толщиной 5 мкм, которые впоследствии в автоматическом режиме окрашивали гематоксилином и эозином на аппарате Microm HMS 740 Thermo scientific и заключали в среду Bio-Mount (Bio Optica Milano S.P.A., Италия).

Иммуногистохимическое исследование сетчатого материала проводили в соответствии со стандартным протоколом. Из блоков, приготовленных для гистологического исследования, на микротоме готовили серийные срезы толщиной 5 мкм, которые монтировали на стекла, покрытые поли-L-лизинном. Депарафинизацию и восстановление антигенной активности срезов осуществляли в РТ-модуле при 98 °С в течение 20 мин. Дальнейшие процедуры осуществляли в автоматическом режиме на Autostainer 360 с использованием системы визуализации QUANTO. Протокол для Autostainer включал в себя обработку срезов H₂O₂ (10 мин), протеиновый блок (10 мин), обработку первичными антителами (30 мин), обработку вторичными антителами (10 мин), DAB (5 мин), а также промывку в буфере TRIS (pH 6) с Tween 20.

В качестве первичных использовали моноклональные кроличьи антитела к Ki-67 (SP 6 EPITOMICS в разведении 1 : 100), которые наносили на срезы в объеме 100 мкл, в качестве вторичных использовали ослиные антитела к иммуноглобулинам кролика, конъюгированные с пероксидазой хрена (EPITOMICS).

После инкубации срезы отмывали в дистиллированной воде, а затем в течение 3 мин докрашивали гематоксилином Майера. После того как срезы приобретали голубой оттенок, стекла извлекали, обезвоживали в батарее спиртов восходящей концентрации, заключали в среду Bio-Mount (Bio Optica Milano S. P. A., Италия). Препараты исследовали под микроскопом (AxioPlan 2 imaging, Carl Zeiss) с фотофиксацией (AxioCam ERc 5s). В иммуногистохимических исследованиях подсчитывали долю окрашенных диаминобензидином в коричневый цвет ядер пролиферирующих клеток от общего количества ядер в области контакта сетчатого материала и соединительной ткани.

Окраску Sirius red проводили с использованием набора реактивов (Picro Sirius Red Stain Kit, connective tissue stain). Срезы толщиной 5 мкм погружали в раствор Picro Sirius (0.1%-ный раствор Sirius Red F3BA с пикриновой кислотой, pH 2) на 30 мин, срезы промывали в 0.01 N HCl 2 мин, дегидратировали и заключали в синтетическую заливочную среду Bio-Mount (Bio Optica Milano S.P.A., Италия).

Визуализацию коллагена I и III типов осуществляли в поляризационном свете при увеличении объектива 40× в области вокруг филаментов сетчатого материала площадью 0.1 мм² (в среднем проводили по 3 исследования на каждую зону). Исследовали цветные гистограммы распределения процентов красных, зеленых и синих пикселей. В каждом случае подсчитывали соотношение красных и зеленых пикселей, что соответствовало распределению коллагена I и III типов.

Для количественной оценки результатов проводили морфометрические исследования. Измерения выполняли в программе ImageJ 1.46 (Wayne Rasband, National Institute of Health, США), после оценки нормальности распределения данных по W-критерию Шапиро—Улка достовер-

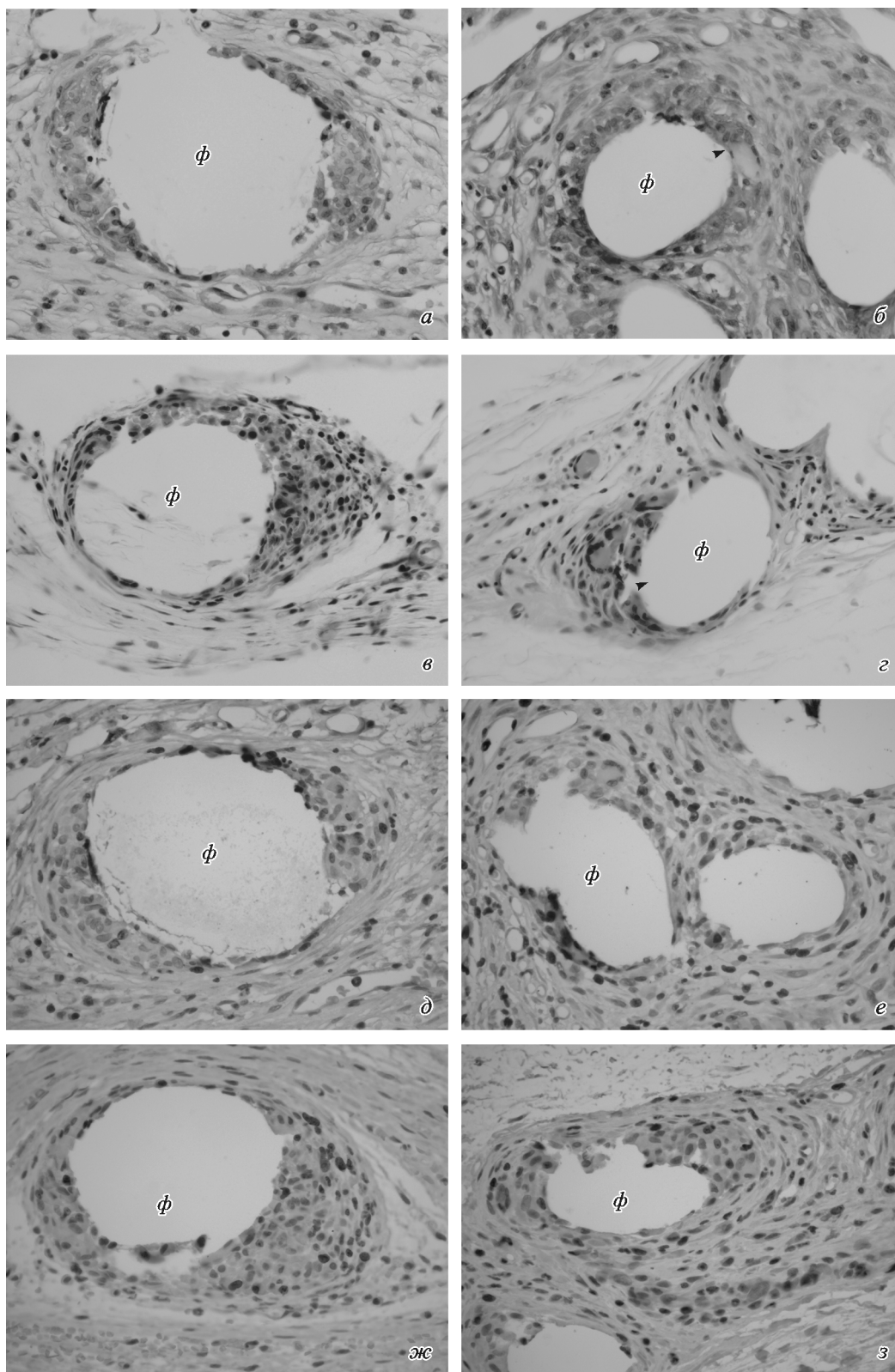


Рис. 1. Гранулемы инородных тел вокруг филаментов из полипропилена PP Std Light (а, в, д, ж) и полипропилена с титановым покрытием TiMesh (б, г, е, з) на 7-е (а, б, д, е) и 30-е (в, г, ж, з) сут эксперимента.

а—г — общий вид гранулемы, окраска гематоксилин-эозином; большое количество гигантских клеток инородных тел (голови стрелок) на 7-е и 30-е сут эксперимента вокруг филаментов (ф) имплантата из материала TiMesh (б, г). д—з — выявление пролиферирующих клеток гранулем инородных тел, иммуногистохимическая реакция с антителами к белку Ki-67, ДАБ-гематоксилин Майера. Количество пролиферирующих клеток с коричневыми ядрами в гранулемах вокруг элементов сети из полипропилена (д, ж) меньше, чем в инфильтратах из TiMesh (е, з). Об. 40×.

ность различий для количественных нормально распределенных признаков оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента при помощи программы STATISTICA 10.0 в ОС Windows 7. В работе указаны средние величины и средние квадратичные отклонения признаков, различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты

Проведенные морфологические исследования выявили вокруг филаментов сетчатых материалов формирование гранул инородных тел с различными характеристиками, которые находились в зависимости от структуры исследованных материалов и сроков проведения эксперимента. На наличие хронического воспаления указывало формирование гранулематозного воспаления из макрофагов, лимфоцитов и гигантских клеток инородных тел в зоне контакта сетчатого материала и ткани. На рис. 1, *a—z* представлены микрофотографии гранул инородных тел вокруг филаментов разных сетчатых материалов на 7-е и 30-е сут эксперимента. Следует отметить большое количество гигантских клеток инородных тел на 7-е и 30-е сут эксперимента вокруг имплантата из материала TiMesh.

Развитие хронического воспалительного ответа сопровождалось пролиферацией клеток вокруг сетчатых материалов. Пролиферативную активность клеток исследовали при помощи иммуногистохимического мечения белка Ki-67 моноклональными антителами.

На рис. 1, *d, e* представлены результаты иммуногистохимического выявления пролиферативно активных клеток (ядра коричневого цвета) в гранулематозном воспалении вокруг элементов разных сетчатых трансплантатов через 7 сут после имплантации. Количественный анализ выявил достоверные отличия ($p < 0.001$) процентного содержания пролиферирующих клеток вокруг элементов сети из полипропилена ($29.1 \pm 5.7\%$) от подобных показателей в инфильтратах вокруг элементов TiMesh ($33.6 \pm 3.1\%$).

Через 30 сут после имплантации сетчатых материалов в ткани животных в области контакта сетчатого материала и соединительной ткани наблюдали менее выраженную пролиферацию клеточных элементов. На рис. 1, *ж, з* представлены микрофотографии гранул инородных тел вокруг элементов сетчатых трансплантатов из материалов PP Std Light и TiMesh через 30 сут после имплантации, на которых можно видеть окрашенные в коричневый цвет ядра пролиферирующих клеток. Количественный анализ показал, что содержание пролиферирующих клеток в гранулемах вокруг элементов сети из полипропилена меньше, чем в инфильтратах из TiMesh (15.9 ± 4.3 и $26.9 \pm 3.6\%$ соответственно, различия достоверны для $p < 0.001$).

С 7-х по 30-е сут эксперимента пролиферативная активность клеток вокруг сетчатого материала PP Std Light достоверно снижается с 29.1 ± 5.7 до $15.9 \pm 4.3\%$ ($p < 0.0001$), подобная же тенденция отмечена нами и в воспалительной реакции вокруг TiMesh (33.6 ± 3.1 и $26.9 \pm 3.6\%$ соответственно, $p < 0.0002$), более выраженное снижение пролиферативной реакции отмечено вокруг материала PP Std Light.

При морфологическом исследовании гранул на 7-е сут после операции наблюдали разрастание грануляционной ткани на фоне слабой выраженности фибриллярных компонентов соединительной ткани. При свето-

оптическом исследовании образцов, окрашенных Sirius red, в области контакта имплантата и ткани грубых коллагеновых волокон практически не выявлено как в гранулемах вокруг сетчатых материалов из PP Std Light (рис. 2, *a*), так и из TiMesh (рис. 2, *b*). На 30-е сут эксперимента при светооптическом исследовании образцов ткани, окрашенных Sirius red, в области интерфейса выявляются окрашенные в красный цвет коллагеновые волокна как в гранулемах вокруг сетчатых материалов из PP Std Light (рис. 2, *в*), так и из TiMesh (рис. 2, *г*).

Количественный анализ содержания разных типов коллагеновых волокон в гранулемах вокруг сетчатых материалов на 7-е сут после имплантации осуществляли в поляризованном свете на срезах, окрашенных Sirius red. При подобном исследовании образцов ткани небольшое зеленоватое окрашивание вокруг сетчатого материала свидетельствует о начале формирования незрелого коллагена III типа. Темно-красная и желтая окраски коллагеновых волокон вокруг сетчатых материалов соответствуют зрелым коллагеновым волокнам вне зоны интерфейса сетчатый материал—ткань. Гомогенная голубоватая окраска на рис. 2, *д, e* соответствует частицам полипропилена сетчатого материала. На 7-е сут после операции соотношение коллагеновых волокон I и III типов в области интерфейса составляло в гранулемах вокруг сетчатых материалов PP Std Light 1.085 ± 0.022 , тогда как вокруг TiMesh это соотношение было достоверно выше и составляло 1.107 ± 0.013 ($p = 0.017$).

При исследовании в поляризованном свете образцов ткани вокруг сетчатых материалов на 30-е сут после их имплантации на срезах, окрашенных Sirius red, коллагеновые волокна в области интерфейса выявляли как в гранулемах вокруг сетчатых материалов из PP Std Light (рис. 2, *ж*), так и из TiMesh (рис. 2, *з*). Однако вокруг сетчатых материалов из PP Std Light коллагеновые волокна окрашиваются преимущественно в зеленый цвет, что свидетельствует о формировании незрелого коллагена III типа. На 30-е сут после операции в области интерфейса соотношение коллагеновых волокон I и III типов в гранулемах вокруг сетчатых материалов из PP Std Light составляло 1.174 ± 0.036 , вокруг материалов из TiMesh данное соотношение было достоверно выше — 1.246 ± 0.102 ($p = 0.045$).

Большее содержание коллагена I типа относительно коллагена III типа вокруг имплантатов из TiMesh свидетельствует о более активном формировании зрелого коллагена I типа. При этом следует отметить, что в период с 7-х по 30-е сут после операции как в гранулемах вокруг сетчатых материалов из PP Std Light, так и из TiMesh происходит достоверное увеличение относительного содержания зрелого коллагена I типа.

Обсуждение

В настоящее время сетчатые материалы, чаще всего синтетические, широко используют в самых разных областях медицины, в основном для укрепления передней брюшной стенки при грыжах (Григорук, Ковалев, 2010; Щербатых и др., 2010). Для оценки эффективности их применения проводится большое количество научных исследований с использованием гистологических методов, сканирующей электронной микроскопии, иммуногистохимических методик (Наумов и др., 2010; Иванов и др., 2012).

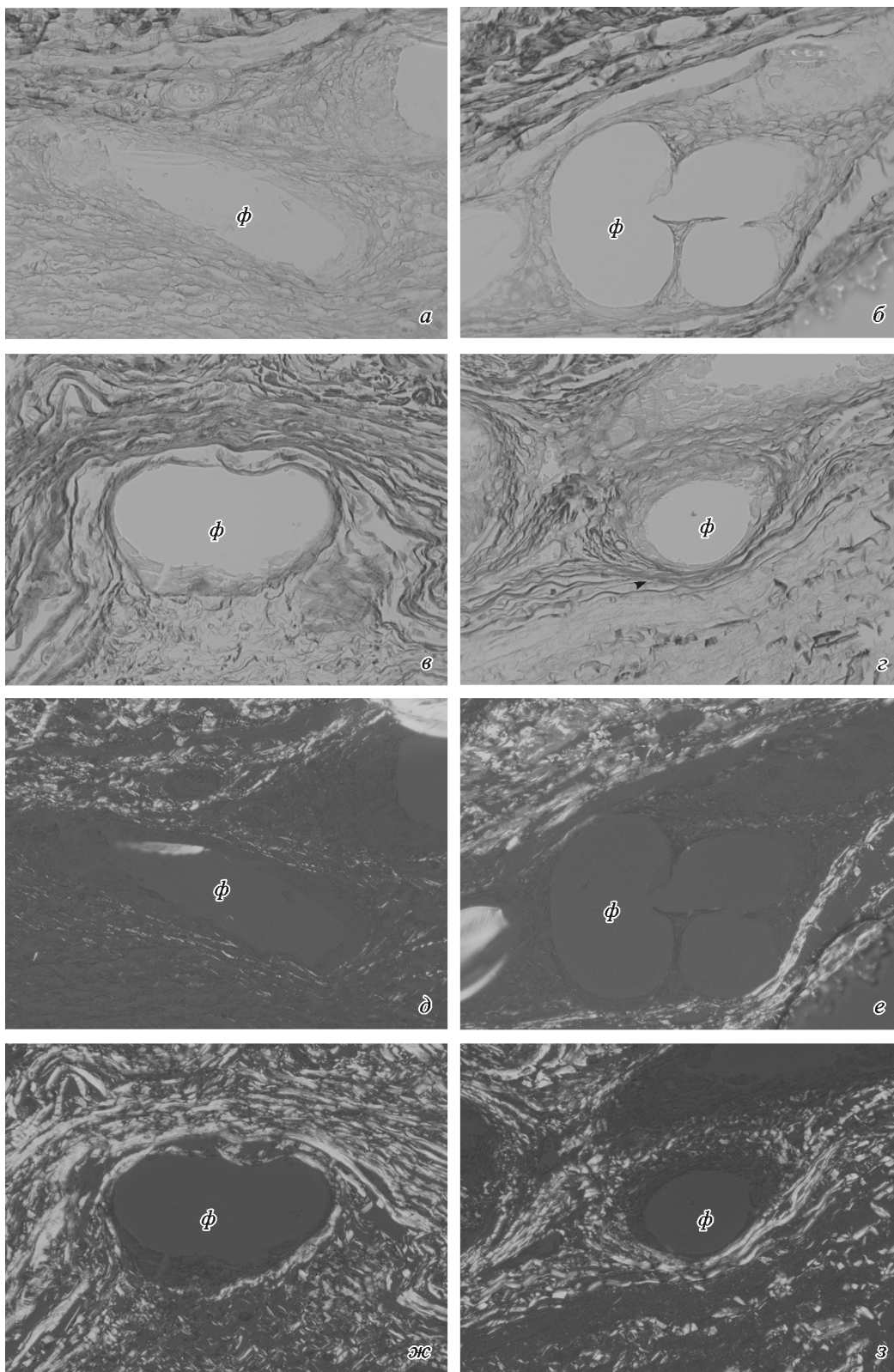


Рис. 2. Выявление коллагена в гранулах инородных тел вокруг филаментов из полипропилена PP Std Light (а, в, д, ж) и полипропилена с титановым покрытием TiMesh (б, в, е, з) на 7-е (а, б, д, е) и 30-е (в, в, ж, з) сут эксперимента.

а—г — световая микроскопия срезов, окрашенных Sirius red; д—з — поляризационная микроскопия срезов, окрашенных Sirius red. Вокруг сетчатых филаментов (ϕ) зрелые коллагеновые волокна, окрашенные в *красный цвет*, выявляются только на 30-е сут эксперимента. Об. 40 \times .

Синтетическая сетка при вшивании в брюшную стенку претерпевает изменения, характерные для любого инородного тела, при этом наблюдается разрушение полимерной структуры. При проведении подобных операций отмечается также множество осложнений, в основе которых лежат процессы взаимодействия между тканью и сетчатым материалом. Основными осложнениями являются восстановление дефекта брюшной стенки за счет сморщивания сети или ее неполной интеграции в ткани организма, проникновение сетчатого материала во внутренние органы или на поверхность кожи, формирование острого гнойного воспаления вокруг материала (Тиммербулатов и др., 2013). Для предотвращения подобных осложнений необходимо изучение характеристик различных сетчатых материалов в экспериментах на животных, в том числе с использованием гистологических методик, позволяющих оценивать реакции клеток на сетчатый материал как на инородное тело (Романов и др., 2012).

Нейтрофилы, лимфоциты, макрофаги и гигантские клетки инородных тел активизируются после вшивания синтетического сетчатого материала (Иванов и др., 2012). Эти клетки выделяют различные ферменты, разрушающие структуру материала, и окружают инородное тело. Лимфоциты и гигантские клетки инородных тел продуцируют в большом количестве свободные радикалы, стимулируя разрастание соединительной ткани. В конечном итоге эти процессы приводят к формированию плотного неподвижного новообразования вокруг сетчатого материала в тканях передней брюшной стенки, что может служить основой различных осложнений (Паршиков и др., 2013; Пикалюк и др., 2014).

В современной реконструктивной хирургии применяют физические и химически инертные сетчатые имплантаты, однако любое внедрение инородного тела в ткани приводит к развитию защитной иммунной реакции организма. При этом сетчатые элементы полностью инкапсулируются за счет формирования гранулемы, состоящей из пролиферирующих клеток и внеклеточного матрикса. Клетки, мигрирующие в область интерфейса сетчатый материал—ткань, участвуют в создании соединительно-тканной капсулы, отграничивающей сетчатый материал от окружающих тканей. Показано, что в состав воспалительного инфильтрата входят макрофаги, лимфоциты, нейтрофилы, тучные клетки и гигантские клетки инородных тел (Klinge et al., 2014).

За счет пролиферативной и синтетической активности клеток воспалительного инфильтрата образуется внеклеточный матрикс, в частности коллаген. Как известно, основными регуляторами клеточной пролиферации и синтеза внеклеточного матрикса и коллагена являются цитокины. Цитокины, синтезирующиеся в поврежденной ткани, модулируют воспалительный каскад во время первой фазы воспалительной реакции, инициируя регенеративные процессы в брюшной стенке (Dubay et al., 2004).

Соответственно существует прямая зависимость между воспалительным процессом и формированием соединительной ткани вокруг вшиваемого сетчатого материала (Laschke et al., 2009). Внедрение в ткани сетчатого материала существенно изменяет процессы формирования коллагена. В ходе заживления ран незрелый коллаген III типа быстро замещается зрелым коллагеном I типа, однако этот процесс может существенно замедляться за счет внедрения сетчатого материала (Brown, Finch, 2010). В результате отмечается снижение соотношения коллагена I и III типов, что приводит к нарушению механической

стабильности сетчатых материалов (Junge et al., 2004; Klosterhalfen et al., 2005). Эффект имплантации на соотношение коллагенов разных типов может существенно зависеть от типа используемого сетчатого материала.

Сравнительные исследования провоспалительных факторов VEGF и COX2 в тканях и процессов образования коллагена вокруг сетчатых материалов из полипропилена и титанизированного полипропилена провели Пирейра-Люсена с соавторами (Pereira-Lucena et al., 2014). Авторы обнаружили, что к 7-м и 40-м сут после имплантации полипропиленового сетчатого материала в стенку брюшной полости крыс воспалительная реакция была менее выражена, а процессы образования коллагена более выражены по сравнению с титанизированным полипропиленом. Во всех группах животных экспрессия VEGF и COX2, а также синтез зрелого коллагена имели тенденцию к снижению с 7-х по 40-е сут эксперимента. Таким образом, уменьшение активности воспалительной реакции в тканях с 7-х по 40-е сут приводило к снижению формирования зрелого коллагена.

В работе, проведенной на домашних свиньях, показано, что полипропиленовая сеть в результате выраженной воспалительной реакции и образования рубцовой ткани подвергается сморщиванию (Scheidbach et al., 2004). При этом титанизированный полипропилен за счет меньшего объема воспалительных гранул инородных тел подвергается меньшей деформации (соответственно 8.8 % по сравнению с 14.9 %, $p < 0.05$). Таким образом, более выраженная воспалительная реакция сопровождалась более интенсивным формированием фиброзной ткани.

Белок Ki-67 считается универсальным маркером пролиферирующих клеток, так как он выявляется в клетке во всех фазах митотического цикла, кроме фазы G₀ (Hofmann, Bucher, 1995). В связи с этим изучение особенностей распределения белка Ki-67 позволяет количественно оценить долю активно пролиферирующих клеток в гранулемах. Шейдбах и соавторы (Scheidbach et al., 2004) получили меньшую долю пролиферирующих клеток, выявляемых по экспрессии Ki-67, вокруг титанизированного полипропилена по сравнению с полипропиленом без покрытия (соответственно 15 и 21 %), однако эти различия были незначительными.

В настоящем исследовании выявлена достоверно более высокая пролиферативная активность клеток вокруг сетчатого материала из титанизированного полипропилена (TiMesh) по сравнению с обычным полипропиленом (PP Std Light), причем эти различия наблюдались как на 7-е, так и на 30-е сут эксперимента. С 7-х по 30-е сут эксперимента пролиферативная активность клеток вокруг сетчатого материала PP Std Light достоверно снижается, подобная же тенденция отмечена нами и в воспалительной реакции вокруг TiMeshc, более выраженное снижение пролиферативной реакции отмечено на PP Std Light.

Полученные нами данные убедительно доказывают, что пролиферативная активность клеток в формирующейся грануле инородных тел в области интерфейса является адекватным критерием, позволяющим оценить не только динамику пролиферативного процесса, но и интенсивность воспалительной реакции в зависимости от физических и химических свойств используемых материалов.

Различная пролиферативная активность клеток в области контакта сетчатых материалов и ткани, по нашему мнению, является причиной различий процессов формирования коллагена. В зоне с невысокой пролиферативной

реакцией вокруг материалов PP Std Light соотношение коллагена I и III типов ниже, чем в зоне вокруг материалов TiMesh, причем эти различия сохраняются и на 30-е сут эксперимента, несмотря на значительное увеличение доли зрелого коллагена I типа к этому сроку.

Таким образом, более высокая пролиферативная активность клеток вокруг сетчатых материалов способствует быстрому формированию зрелого коллагена I типа и соответственно лучшей интеграции имплантата в ткани.

Оценивая влияние использования титанового покрытия, нанесенного на полипропилен, можно утверждать, что оно способствует формированию коллагена I типа и более зрелой соединительной ткани вокруг сетчатого эндопротеза.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (соглашение № 14.607.21.0085 от 5 ноября 2014 г.).

Список литературы

- Григорюк А. А., Ковалев В. А. 2010. Применение сетчатых полипропиленовых имплантатов в лечении послеоперационных вентральных грыж: экспериментальное и клиническое исследование. Дальневост. мед. журн. 15 (2) : 23—26. (Grigoryuk A. A., Kovalev V. A. 2010. The use of polypropylene mesh implants in the treatment of postoperative ventral hernias: experimental and clinical study. Far East Med. J. 15 (2) : 23—26.)
- Иванов С. В., Иванов И. С., Горьянова Г. И., Цуканов А. В., Катунина Т. П. 2012. Сравнительная морфология тканей при использовании протезов из полипропилена и поливинилиденфториды. Цитология. 54 (2) : 158—164. (Ivanov S. V., Ivanov I. S., Goriainova G. N., Tsukanov A. V., Katunina T. P. 2012. Comparative morphology of tissues when using polypropylene and polytetrafluorethylene prostheses. Tsitologiya. 54 (2) : 158—164.)
- Колпаков А. А., Казанцев А. А. 2015. Сравнительный анализ результатов применения протезов «титановый шелк» и полипропилена у больных с послеоперационными вентральными грыжами. Рус. мед. журн. 13 : 774—775. (Kolpakov A. A., Kazantsev A. A. 2015. Comparative analysis of the use of prostheses «Titanium silk» and polypropylene in patients with postoperative ventral hernias. Russ. Med. J. 13 : 774—775.)
- Наумов Б. А., Чернооков А. И., Шехтер А. Б., Толлибов Ф. Г., Алексеевских Ю. Г., Халимджанов З. К. 2010. Морфологическая оценка заживления раны при различных способах пластики дефектов передней брюшной стенки у экспериментальных животных и грыжесечение с протезирующей реконструктивной пластикой у больных с ущемленными послеоперационными вентральными грыжами с использованием фибринового клея. Анналы хирургии. 4 : 37—45. (Naumov B. A., Chernookov A. I., Schechter A. B., Tolibov F. G., Alekseevsky J. G., Halimdzhанov Z. K. 2010. Morphological estimation of wound healing with different methods of plastic abdominal wall defects in experimental animals, and hernia repair with prosthetic reconstructive plasty in patients with strangulated postoperative ventral hernias using fibrin glue. Annals of Surgery. 4 : 37—45.)
- Паршиков В. В., Самсонов А. В., Романов Р. В., Градусов В. П., Самсонов А. А., Ходак В. А., Петров В. В., Цыбусов С. Н., Бабуринов А. Б., Кихляров П. В., Казанцев А. А. 2011а. Первый опыт пластики брюшной стенки эндопротезами из титанового шелка. Мед. альманах. 1 (20) : 107—110. (Parshikov V. V., Samsonov A. V., Romanov R. V., Graduson V. P., Samsonov A. A., Hodak V. A., Petrov V. V., Tsybusov S. N., Baburin A. B., Kihlyarov P. V., Kazantsev A. A. 2011a. The first experience of plastic abdominal endoprosthesis made of titanium silk. Med. almanakh. 1 (20) : 107—110.)
- Паршиков В. В., Снопина Л. Б., Жемарина Н. В., Продавец Н. Н., Баскина О. С., Ходак В. А., Петров В. В., Дворников А. В., Миронов А. А., Цыбусов С. Н. 2013. Морфологические особенности течения репаративного процесса после интраперитонеальной пластики брюшной стенки сеткой в зависимости от материала и структуры эндопротеза в эксперименте. Совр. техн. в мед. 5 (3) : 23—30. (Parshikov V. V., Snopova L. B., Zhemarina N. V., Prodanets N. N., Baskina O. S., Hodak V. A., Petrov V. V., Dvornicov A. V., Mironov A. A., Tsybusov S. N. 2013. Morphological characteristics of the course reparative process after intraperitoneal plastic abdominal wall grid depending on the material and structure of the implant in the experiment. Sovr. tehn. v med. 5 (3) : 23—30.)
- Паршиков В. В., Ходак В. А., Петров В. В., Бабуринов А. Б. 2011б. Атензионная пластика: современное состояние вопроса. Вестн. экспер. клин. хирургии. 4 (3) : 612—618. (Parshikov V. V., Hodak V. A., Petrov V. V., Baburin A. B. 2011b. Atenzionnaya plastic: Current status of the issue. Vestn. Eksp. Clin. Chir. 4 (3) : 612—618.)
- Пикалюк В. С., Гривенко С. Г., Шаланин В. В., Хатунов А. С., Журавель Е. А., Асанова З. В. 2014. Местная реакция тканей на полипропиленовый сетчатый эндопротез при его имплантации в ткани передней брюшной стенки и возможные пути ее уменьшения. Морфология. 8 (1) : 74—79. (Pikaljuk V. S., Grivenko S. G., Shalanin V. V., Hatipov A. S., Zhuravel E. A., Asanova Z. V. 2014. Local tissue reaction to a polypropylene mesh prosthesis when implanted in the tissue of the anterior abdominal wall and possible ways of reducing it. Morphologiya. 8 (1) : 74—79.)
- Романов Р. В., Федаев А. А., Петров В. В., Ходак В. А., Паршиков В. В. 2012. Современное состояние проблемы интраперитонеальной пластики брюшной стенки синтетическими эндопротезами. Совр. техн. в мед. 4 : 161—170. (Romanov R. V., Fedayev A. A., Petrov V. V., Hodak V. A., Parshikov V. V. 2012. Current status of intraperitoneal plastic abdominal wall with synthetic prosthesis. Sovr. tehn. v med. 4 : 161—170.)
- Сарбаева Н. Н., Пономарева Ю. В., Волова Л. Т. 2013. Активация перитонеальных макрофагов крысы на поверхности эндопротезов, применяемых для герниопластики. Технологии живых систем. 10 (8) : 84—90. (Sarbayeva N. N., Ponomareva Yu. V., Volova L. T. 2013. Activation of rat peritoneal macrophages on the surface of implants used for hernia repair. Technology ghivikh sistem. 10 (8) : 84—90.)
- Тимербулатов М. В., Тимербулатов Ш. В., Гатауллина Э. З., Валитова Э. Р. 2013. Послеоперационные вентральные грыжи: современное состояние проблемы. Мед. вестн. Башкортостана. 8 (5) : 101—107. (Timerbulatov M. V., Timerbulatov Sh. V., Gataullina E. Z., Valitova E. R. 2013. Postoperative ventral hernia: state of the art. Med. Vestn. Bashkortostana. 8 (5) : 101—107.)
- Чернов А. В., Ирьянов Ю. М., Радченко С. А., Чернов В. Ф., Ирьянова Т. Ю. 2012. Исследование особенностей интеграции различных биоматериалов в мягких и костной тканях организма. Гений ортопедии. 1 : 97—101. (Chernov A. V., Iryanov Yu. M., Radchenko S. A., Chernov V. F., Iryanova T. Yu. 2012. The study features the integration of various biomaterials in bone and soft tissues of the body. The genius of orthopedics. 1 : 97—101.)
- Щербатых А. В., Соколова С. В., Шевченко К. В. 2010. Современное состояние проблемы хирургического лечения послеоперационных вентральных грыж. Сиб. мед. журн. (Иркутск). 95 (4) : 11—16. (Shcherbatykh A. V., Sokolova S. V., Shevchenko K. V. 2010. Current status of surgical treatment of postoperative ventral hernias. Sib. Med. J. (Irkutsk). 95 (4) : 11—16.)
- Asarias J. R., Nguyen P. T., Mings J. R., Gehrich A. P., Pierce L. M. 2011. Influence of mesh materials on the expression of mediators involved in wound healing. J. Invest. Surg. 24 : 87—98.
- Brown C. N., Finch J. G. 2010. Which mesh for hernia repair? Ann. R. Coll. Surg. Engl. 92 : 272—278.
- Dubay D. A., Wang X., Kuhn A., Robson M. C., Franz M. G. 2004. The prevention of incisional hernia formation using a delayed-release polymer of basic fibroblast growth factor. Ann. Surg. 240 : 179—186.

García-Moreno F., Pérez-Lypez P., Sotomayor S., Pérez-Köhler B., Bayon Y., Pascual G., Bellón J. M. 2015. Comparing the host tissue response and peritoneal behavior of composite meshes used for ventral hernia repair. *J. Surg. Res.* 193 : 470—482.

Hofmann K., Bucher P. 1995. The FHA domain: a putative nuclear signaling domain found in protein kinases and transcription factors. *Trends Biochem. Sci.* 20 : 347—349.

Jacob D. A., Schug-Pass C., Sommerer F., Tannapfel A., Lippert H., Köckerling F. 2012. Comparison of a lightweight polypropylene mesh (Optilene® LP) and a large-pore knitted PTFE mesh (GORE® INFINIT® mesh)—Biocompatibility in a standardized endoscopic extraperitoneal hernia model. *Langenbecks Arch. Surg.* 397 : 283—289.

Junge K., Klinge U., Rosch R., Mertens P. R., Kirch J., Klosterhalfen B., Lynen P., Schumpelick V. 2004. Decreased collagen type I/III ration in patients with recurring hernia after implantation of alloplastic prosthesis. *Langenbecks Arch. Surg.* 389 : 17—22.

Junqueira L. C., Cossermelli W., Brentani R. 1978. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. *Arch. Histol. Jpn.* 41 : 267—274.

Klinge U., Dietz U., Fet N., Klosterhalfen B. 2014. Characterization of the cellular infiltrate in the foreign body granuloma of textile meshes with its impact on collagen deposition. *Hernia.* 18 : 571—578.

Klosterhalfen B., Junge K., Klinge U. 2005. The lightweight and large porous mesh concept for hernia repair. *Expert Rev. Med. Devices.* 2 : 103—117.

Klosterhalfen B., Klinge U. 2013. Retrieval study at 623 human mesh explants made of polypropylene—impact of mesh class and indication for mesh removal on tissue reaction. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 101 : 1393—1399.

Laschke M. W., Häufel J. M., Scheuer C., Menger M. D. 2009. Angiogenic and inflammatory host response to surgical meshes of different mesh architecture and polymer composition. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 91 : 497—507.

Müller-Stich B. P., Senft J. D., Lasitschka F., Shevchenko M., Billeter A. T., Bruckner T., Kennigott H. G., Fischer L., Gehrige T. 2014. Polypropylene, polyester or polytetrafluoroethylene — is there an ideal material for mesh augmentation at the esophageal hi-

atus? Results from an experimental study in a porcine model. *Hernia.* 18 : 873—881.

Orenstein S. B., Saberski E. R., Klueh U., Kreutzer D. L., Novitsky Y. W. 2010. Effects of mast cell modulation on early host response to implanted synthetic meshes. *Hernia.* 14 : 511—516.

Orenstein S. B., Saberski E. R., Kreutzer D. L., Novitsky Y. W. 2012. Comparative analysis of histopathologic effects of synthetic meshes based on material, weight, and pore size in mice. *J. Surg. Res.* 176 : 423—429.

Pascual G., Rodríguez M., Sotomayor S., Pérez-Köhler B., Bellón J. M. 2012. Inflammatory reaction and neotissue maturation in the early host tissue incorporation of polypropylene prostheses. *Hernia.* 16 : 697—707.

Pascual G., Sotomayor S., Rodríguez M., Arteaga V., Bellón J. M. 2015. Extraperitoneal and intraperitoneal behavior of several biological meshes currently used to repair abdominal wall defects. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 103 : 365—372.

Pereira-Lucena C. G., Artigiani-Neto R., de Rezende D. T., Lopes-Filho G. J., Matos D., Linhares M. M. 2014. Early and late postoperative inflammatory and collagen deposition responses in three different meshes: an experimental study in rats. *Hernia.* 18 : 563—570.

Pereira-Lucena C. G., Artigiani-Neto R., Lopes-Filho G. J., Frazao C. V., Goldenberg A., Matos D., Linhares M. M. 2010. Experimental study comparing meshes made of polypropylene, polypropylene + polyglactin and polypropylene + titanium: inflammatory cytokines, histological changes and morphometric analysis of collagen. *Hernia.* 14 : 299—304.

Scheidbach H., Tannapfel A., Schmidt U., Lippert H., Köckerling F. 2004. Influence of titanium coating on the biocompatibility of a heavyweight polypropylene mesh. An animal experimental model. *Eur. Surg. Res.* 36 : 313—317.

Schopf S., von Ahnen T., von Ahnen M., Schardey H. T. 2011. Chronic pain after laparoscopic transabdominal preperitoneal hernia repair: a randomized comparison of light and extralight titanium-coated polypropylene mesh. *World J. Surg.* 35 : 302—310.

Поступила 23 IX 2015

INFLUENCE OF TITANIUM COATING ON THE BIOCOMPATIBILITY OF POLYPROPYLENE IMPLANTS

I. I. Babichenko,^{1,*} A. A. Kazantsev,² D. L. Titarov,¹ K. A. Shemyatovsky,¹ N. M. Ghevondian,³ D. S. Melchenko,² A. I. Alekhin²

¹ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198,

² Central Clinical Hospital, RAS, Moscow, 117593, and ³ M. M. Shemyakin—Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Moscow, 117997;

* e-mail: babichenko@list.ru

Comparative analysis of the proliferative activity of inflammatory cells and distribution of collagen types I and III was carried out around the net materials of polypropylene and titanium coating polypropylene using immunohistochemical method and polarization microscopy. Experimental modeling of implanted mesh material were made in the soft tissues of the lumbar region of rats. On the 7th postoperative day, quantitative analysis of proliferating cells detected using antibodies to the Ki-67 protein showed, a significant decrease ($p < 0.001$) in the number of proliferating cells around the network elements of the polypropylene ($29.1 \pm 5.7\%$), when compared to similar figures of infiltrates in titanium coating polypropylene ($33.6 \pm 3.1\%$). Similar patterns were found on the 30th day of the experiment — 15.9 ± 4.3 and $26.9 \pm 3.6\%$ — respectively ($p < 0.001$). Different types of collagen fibers in the granulomas around various types of implanted mesh material were detected on sections stained with Sirius red at polarizing light. On the 7th day after surgery, the ratio of collagen fibers type I and III in granulomas around the mesh material made of polypropylene was 1.085 ± 0.022 and this ratio around materials of titanium coated polypropylene was higher — 1.107 ± 0.013 ($p = 0.017$). On the 30th postoperative day in the interface area ratio I/III collagen significantly increased and amounted to 1.174 ± 0.036 and 1.246 ± 0.102 , respectively ($p = 0.045$). Assessing the impact of the use of titanium as a coating on the polypropylene, it can be argued that it promotes the formation of collagen I type and a more mature connective tissue around the mesh of the implants.

Key words: mesh materials, polypropylene, titanium coating polypropylene, Ki-67, collagen I, III type.