

В.Г. Богдан¹, И.А. Швед²

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ПЛАСТИКЕ МОДЕЛИРОВАННОГО ДЕФЕКТА БРЮШНОЙ СТЕНКИ: МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТКАНЕВОЙ РЕАКЦИИ

*Военно-медицинский факультет в УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»²*

Проведенный анализ динамики изменений количественных характеристик морфологических особенностей тканевой реакции при пластике моделированного дефекта брюшной стенки с трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, инкорпорированных в желатиновый гель, в эксперименте позволил выявить практически полное отсутствие тканевой реакции воспалительного характера в ранних и отдалённых сроках наблюдения, активную пролонгированную стимуляцию неангиогенеза, раннее образование полноценной зрелой нежно-волокнистой коллагеновой ткани.

Ключевые слова: *мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани, морфология, соединительная ткань, ангиогенез, фибробласты*

V.G. Bogdan¹, I.A. Shved²

TRANSPLANTATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS FROM THE ADIPOSE TISSUE PLASTICS MODELLING DEFECT OF ABDOMINAL WALL: MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE TISSUES REACTION

The analysis of the dynamics of change of the quantitative characteristics of the morphological features of the tissue reaction in the plastic simulated abdominal wall defect with transplantation of mesenchymal stem cells from adipose tissue incorporated in the gelatin gel, the experiment revealed the almost complete absence of tissue reaction to the inflammatory nature of early and long term follow, active prolonged stimulation of neoangiogenesis, early education full mature soft fibrous collagen tissue.

Key words: *mesenchymal stem cells from adipose tissue, morphology, connecting tissue, angiogenesis, fibroblasts*

Применение сетчатых имплантатов лишь в определенной степени позволило решить проблему послеоперационных вентральных грыж (ПОВГ): повысить эффективность пластики и снизить уровень рецидивов заболевания. Вынужденная необходимость нахождения хирургической сетки в зоне пластики является причиной существования активной и длительной воспалительной реакции в окружающих тканях, с развитием местных ретенционных и инфекционных осложнений вплоть до отторжения эндопротеза, приводит к чрезмерному новообразованию коллагена с формированием мощного и малоподвижного фиброзного слоя с деформацией имплантата, снижению качества жизни пациента из-за болевого синдрома [1-3].

Предполагаемая концепция по решению данной проблемы сводится к следующим положениям: разработка новых способов реконструкции без использования синтетических материалов, снижение активности и уменьшение длительности воспалительной реакции, стимуляция репаративных процессов и синтез полноценной соединительной ткани в зоне герниопластики.

Перспективным направлением для реализации представленных задач является создание композиционных биологических трансплантатов, состоящих из внеклеточной матрицы с включением алло- или аутогенных клеток, культивированных *in vitro* [2,4]. Большинство исследований посвящены изучению морфологических особенностей тканевой реакции при имплантации хирургических сеток покрытых фибробластами у экспериментальных животных. В результате проведенного эксперимента Дубовой Е.А. по имплантации полипропиленовых сеток, покрытых фибробластами, установлена более выраженная клеточная реакция (воспалительная и фибробластическая) с ранней инкорпорацией эндопротеза в ткани [5]. Заслуживают внимания исследования Гостевского А.А. по разработке и изучению в эксперименте биологического протеза – полипропиленовой сетки, пропитанной коллагеновым гелем с культурой живых фетальных фибробластов, применение которой способствовало формированию функционально полноценной регенераторной ткани, сокращению сроков вживления трансплантата [6]. Работами Иванова С.В. и Иванова

И.С. с соавт. доказано, что трансплантация аллогенных эмбриональных фибробластов в зону пластики изолированно и при имплантации с сетками приводит к ускорению купирования воспалительной реакции, снижая риск образования сером, потенцирует процессы регенерации путем ускорения дифференцировки фибробластов, оказывает модифицирующее действие на структуру рубца, делая его сходным с апоневрозом [7,8]. В литературных источниках имеются единичные работы, в которых в качестве клеточной составляющей использовались мезенхимальные стволовые (стромальные) клетки (МСК) из костного мозга, с морфологической картиной стимуляции ангиогенеза и увеличения общего количества коллагена в тканях передней брюшной стенки при трансплантации лабораторным животным [9].

Выбор в качестве клеточного компонента аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток), выделенных из жировой ткани (МСК ЖТ) по нашему мнению имеет ряд неоспоримых преимуществ: малоинвазивный способ забора материала, большой выход клеток при выделении, высокий пролиферативный потенциал, высокий уровень продукции естественных стимуляторов репарации, возможность изменения функциональных характеристик клеток, морфологическое и фенотипическое единство с культурами фибробластов, неспособность выступать в роли антиген-презентирующих клеток и инициировать развитие специфических иммунных реакций, экспрессия элементов внеклеточного матрикса и ростовых факторов [10-13].

Вместе с тем, в доступных нам источниках литературы отсутствует информация о морфологических изменениях тканей при использовании МСК ЖТ для пластики моделированной послеоперационной грыжи в эксперименте.

Цель исследования: провести анализ динамики количественных характеристик морфологических особенностей тканевой реакции при пластике моделированного дефекта брюшной стенки с трансплантацией МСК ЖТ.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 70 белых ран-домбредных 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 care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press, Revised, 1996) [14].

Для оценки в эксперименте морфологического состояния тканей при имплантации различных по составу хирургических сеток разработан способ моделирования послеоперационной вентральной грыжи у лабораторного животного (патент РБ на изобретение № 15612, авторы: Богдан В.Г., Толстов Д.А.). В стерильных условиях под внутрибрюшным тиопенталовым наркозом (40 мг/кг массы животного) крысу фиксировали за лапки с помощью четырех держалок. После этого производили продольное рассечение кожи, подкожной клетчатки, апоневроза белой линии живота и брюшины на протяжении 4 см от мечевидного отростка. Затем отделяли париетальную брюшину от передней брюшной стенки с последующим ушиванием дефекта брюшины непрерывным швом. После чего выполняли два разреза мышечно-апоневротической части передней брюшной стенки перпендикулярных продольному разрезу длиной 2 см, отступая при этом по 1 см от его верхнего и нижнего края, с формированием по обе стороны от продольного разреза в средней части прямоугольного, в верхней и нижней части треугольных мышечно-апоневротических лоскутов с последующим подворачиванием и подшиванием прямоугольных лоскутов к внутренней поверхности передней брюшной стенки узловыми швами и сшиванием в виде дубликатуры двух пар смежных треугольных мышечно-апоневротических лоскутов и последующим сшиванием краев кожной раны. Грыжевое выпячивание в области операционного вмешательства образовывалось на 14 сутки после операции.

В процессе моделирования послеоперационной грыжи выполняли забор жировой ткани (фрагмент большого сальника) с последующим выделением и культивированием мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани (МСК ЖТ) [14].

Методом простой рандомизации были сформированы две группы по 35 лабораторных животных в каждой без достоверных отличий по весу и возрасту. В основной группе проведена пластика дефекта передней брюшной стенки с использованием многокомпонентного биологического трансплантата (трехмерный 2,5% желатиновый гель с инкорпорированными МСК ЖТ в концентрации $1,5 \times 10^5 / 300 \text{ мкл}$), размещенного между париетальной брюшиной и ушитым дефектом апоневрозом. В группе сравнения (контроля) в зону

пластики (ушивания) дефекта под апоневроз дополнительно вносили 2,5% желатиновый гель.

Морфологическое исследование тканей брюшной стенки проводили на материале, полученном при выведении из эксперимента передозировкой наркоза лабораторных животных на 3, 7, 14, 30, 60 сутки после выполнения пластики. Материал фиксировался в нейтральном 10% растворе нейтрального формалина и заливался в парафин. Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивались гематоксилином и эозином, MSB. Изучение препаратов проводилось с помощью микроскопа «Olimpus CX-41» при различном увеличении. Микрофотографии были получены с применением фотокамеры-приставки «Leica Qwin DC 200».

Особенности морфологических изменений тканей передней брюшной стенки оценивали по 11 признакам: резорбция геля, выпадение фибрина, воспаление, неоангиогенез, коллагенизация, гистиоцитарные изменения (грануляционная и фиброзная ткань) и клеточный состав в области трансплантации (макрофаги, фибробласты, многоядерные гигантские клетки инородных тел (МГКИТ), степень трансформации (редукции) МСК ЖТ). 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 $p < 0,05$ [16].

Результаты исследования. Проведенные морфологические исследования полученных препаратов позволили установить различный характер изменений в тканях, начиная с 3-х суток наблюдения.

В гистологических срезах при размещении желатинового матрикса (рис.1А) присутствовали очаги гомогенного геля глобулярного вида с признаками резорбции (0,25 (0-0,5) балла), в щелях между глобулами – скудный воспалительный инфильтрат из мононуклеаров. Отмечены обширные очаги рыхлой сосудистой грануляционной ткани (0,5 (0,5-0,5) балла) с формированием единичных фибробластов (0,25 (0-0,5) балла), глубоко распространяющиеся на мышечную ткань с участками дистрофии миоцитов. Признаки неоангиогенеза во всех препаратах группы отсутствовали. Выявлена дистрофия апоневроза с оча-

гами сетчатого фибрина (1 (1-1) балл) и диффузной его инфильтрацией мононуклеарами и плазматическими клетками с незначительным числом макрофагов – гистиоцитов до 0,5 (0-0,5) балла. Агрегация эритроцитов и сегментоядерных лейкоцитов (СЯЛ) в просвете сосудов грануляционной ткани, формирование симпластов из дистрофичных набухших клеток (эндотелиоциты), диффузное серозное воспаление до 0,5 (0,5-0,5) балла из мононуклеаров с обилием плазматических клеток и диапедезные кровоизлияния дополняли морфологическую картину тканевой реакции. По всей толще геля признаков коллагенизации отмечено не было.

В препаратах основной группы исследования (рис.1Б), с имплантацией желатинового матрикса с инкорпорированными МСК ЖТ, над париетальной брюшиной с очаговым отеком и гнездами полнокровных расширенных тонкостенных сосудов (капилляры и вены) прослеживалась обширная и неравномерная полоса геля глобулярного и частично сетчатого вида с мелкими очагами крупно-вакуольной резорбции до 0,5 (0,5-0,5) балла. Во всех препаратах отмечена пенетрация глобулей геля большим количеством полиморфных клеток: многочисленными, часто распадающимися, нейтрофильными лейкоцитами, мелкими округлыми с гиперхромным ядром и без цитоплазмы лимфоцитами и эозинофильными сегментоядерными лейкоцитами, которые так же располагались в щелях между глобулами и, особенно, на всем протяжении на границе с мышечной тканью; там же находились очаги сетчатого фибрина с распространенностью до 0,75 (0,5-1) балла, со скоплением полиморфных мононуклеаров. Количество фибробластов превосходило ($p < 0,05$) значение группы сравнения и достигало 0,5 (0,5-0,5) балла. По краю наружного слоя мышц и в очагах сетчатого фибрина находилось большое количество адгезирующихся клеток (расцененных нами как МСК ЖТ) с признаками трансформации предположительно в предшественники фибробластов и макрофаги (0,5 (0-0,5) балла), так же встречались как по одиночке расположенные, так и мелкие группы эритроцитов с начинающимся формированием капилляров (активность неоангиогенеза до 0,5 (0-0,5) балла). Перифокально в мышечной ткани и на всем протяжении имплантированных компонентов выраженность воспаления составила 0,25 (0-0,5) балла, присутствовал отек межмышечной стромы, ее мелкочаеистость, нередко ячейки со сформированными эндотелиоцитами с большей чем в группе контроля ($p < 0,05$) распространенностью сосудистой грануляционной ткани до 0,25 (0-0,5) балла, в которой было относительно много диффузно разбросанных мелких гиперхромных клеток – предшественники фибробластов, немногочисленные фибробласты с минимальной пролиферацией, немногочисленные мононуклеары и макрофаги (0,25 (0-0,5) балла).

На 7 сутки наблюдения в группе контроля в зоне

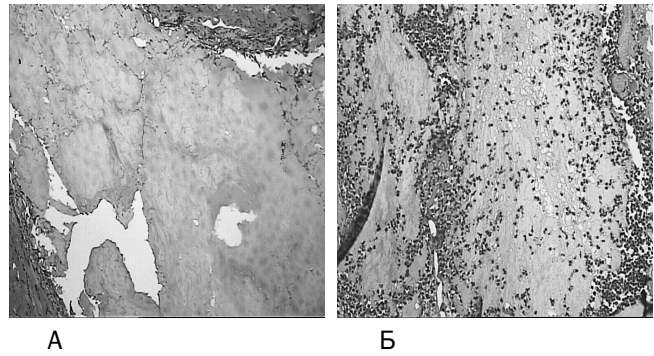


Рисунок 1. Пластика моделированного дефекта передней брюшной стенки, 3 сутки; А – желатиновый гель, окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$, Б – желатиновый гель с инкорпорированными МСК ЖТ, окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

имплантации определялись объемные очаги гомогенного крупно глобулярного геля с продолжающейся ($p < 0,05$) резорбцией до 0,5 (0,5-0,5) балла (рис.2А). В межглобулярных полостях и щелях дополнительного патологического содержимого выявлено не было. По краям гелевой структуры сформирована неравномерной толщины полоса клеточно-волоконистой фиброзной ткани (0,25 (0-0,5) балла) со слабо выраженной коллагенизацией (0,5 (0,5-0,5) балла) – мелкие, тонкие и весьма рыхло расположенные коллагеновые волокна. В её толще и на всем протяжении перифокально присутствовали немногочисленные полнокровные капилляры с минимальной активностью неоангиогенеза (0,5 (0,5-0,5) балла), прогрессирующим увеличением количества фибробластов до 0,5 (0,5-0,5) балла ($p < 0,05$) и макрофагов до 0,5 (0,5-1) балла. Отмечены инкапсулированные или инкапсулирующиеся относительно многочисленные, диффузно расположенные глобулы геля и формирующиеся МГКИТ (0,5 (0-0,5) балла). В мышечной части дефекта находились очаги молодой и зреющей грануляционной ткани (1 (1-1) балл), зоны межочного склероза с гипо- и атрофией, мелкочаеистой дистрофией и сегментарным рассасыванием миоцитов и мышечных волокон. Установлена положительная динамика снижения как распространенности очагов фибрина до 0,25 (0-0,5) балла ($p < 0,05$) с признаками уплотнения или лизиса, так и выраженности воспалительной реакции до 0,25 (0-0,5) балла ($p < 0,05$) с инфильтрацией мононуклеарами и плазматическими клетками.

Трансплантация МСК ЖТ к 7 суткам эксперимента характеризовалась наличием узкой полоски геля с продолжающимся рассасыванием и уровнем активности (1 (1-1) балл) выше значений группы сравнения ($p < 0,05$) и предыдущего срока наблюдения ($p < 0,05$), без признаков воспаления и очагов фибрина (рис.2Б). В щелях и в толще многих объемных глыб геля присутствовало обилие полиморфных клеток – МСК ЖТ, с нарастающей их трансформацией ($p < 0,05$) до 1 (0,5-1)

балла. На обширных участках перифокально многокомпонентного биологического трансплантата и на границе с мышечной тканью определено увеличение ($p < 0,05$) относительно 3 суток диффузного разрастания зреющей грануляционной ткани (0,5 (0,5-1) балла) на начальной стадии формирования густоклеточной волокнистой фиброзной ткани (0,5 (0,5-0,5) балла) с умеренной коллагенизацией в виде неупорядоченных тяжей (1 (0,5-1) балл) причем с более выраженной ($p < 0,05$) чем в контрольной группе интенсивностью последних двух признаков. На границе геля и в фиброзной ткани клеточный состав был неоднороден и достоверно более многочислен по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$) и предыдущим временным периодом ($p < 0,05$): фиброциты, обилие, нередко в виде частокола, фибробластов (1,5 (1-2) балла), их предшественников и макрофагов (1 (1-1) балл). Формирующаяся фиброзная ткань диффузно разрасталась в толще отдельных объемных глыбок геля, или (чаще) в виде медузообразных тяжей, пенетрируя и расчленяя массу геля на полиморфные глыбы или глобулы. В инкапсулированных глобулах геля отмечалось его рассасывание. В толще фиброзной ткани продолжалось ($p < 0,05$) формирование «мелких» (точечных) капилляров с гнездами полнокровных капилляров и венул, с активностью неоангиогенеза достоверно выше уровня контроля (1 (1-1) балл). МГКИТ выявлено не было.

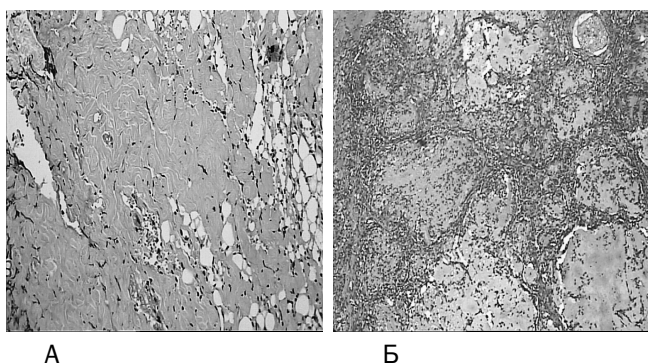


Рисунок 2. Пластика моделированного дефекта передней брюшной стенки, 7 сутки; А – желатиновый гель, окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$, Б – желатиновый гель с инкорпорированными МСК ЖТ, окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

К 14 суткам эксперимента в препаратах контрольной группы отмечено наличие неравномерной полосы геля с признаками продолжающегося ($p < 0,05$) рассасывания (1 (1-1) балл) и организации (рис.3А), с полным отсутствием фибриновых наложений и воспаления в окружающих тканях. В большей части геля отмечалось прогрессирующее ($p < 0,05$) диффузное (сетчатое) разрастание тяжей рыхлой (по краям полосы геля – плотной), малоклеточной фиброзной ткани (1 (1-1) балл), окаймляющих (инкапсуляция) полиморфные, преимущественно мелкие и средних размеров глобулы геля, в толще которых, выявлено увеличение ($p < 0,05$)

количества формирования неравномерно сгруппированных или расположенных по одиночке фибробластов (1 (1-1) балл) и их предшественников, при постоянном уровне ($p > 0,05$) распространенности МГКИТ (0,5 (0,5-0,5) балла). В большинстве препаратов установлено увеличение ($p < 0,05$) интенсивности неоангиогенеза до 0,75 (0,5-1) балла, в виде немногочисленных эктазированных и полнокровных капилляров, венул и артериол. По всей толще геля, между глыбами и глобулами, а также перифокально отмечено формирование умеренно или мало клеточной коллагеновой ткани (0,5 (0,5-0,5) балла) с минимальными признаками формирования волокнистого компонента и разнообразием клеток: фибробласты, реже фиброциты, изредка недифференцированные формы и макрофаги (0,5 (0,5-0,5) балла).

В основной группе исследования к этому времени выявлено количественное нарастание ($p < 0,05$) большинства признаков в сравнении с группой контроля и 7 сутками: обширная полоса (между париетальной брюшиной и мышечно-апоневротическим слоем) умеренно клеточно-волокнистой фиброзной ткани (2 (2-2) балла), с формированием на всем протяжении тонких коллагеновых волокон (2 (1-2) балла) с рыхлой или, преимущественно, компактной упакованностью волокон, содержащая остатки полиморфных (мелких, средних размеров и крупных) инкапсулированных глобул геля с высокой активностью процессов резорбции (2 (2-2) балла), диффузная их пенетрация, иногда в виде цепочек, фибробластами (2 (2-2) балла) и макрофагами (2 (1-2) балла), обилие МСК ЖТ с выраженной трансформацией в предшественники фибробластов и макрофаги до 2 (2-2) баллов (рис.3Б). Общая активность неоангиогенеза достигла 1,5 (1-2) баллов (достоверно выше значения контрольного показателя) и была представлена качественными характеристиками: в межглобулярной фиброзной ткани многочисленными мелкими очагами гиперплазии «мелких» (точечных) капилляров, на границе с мышечной тканью – множе-

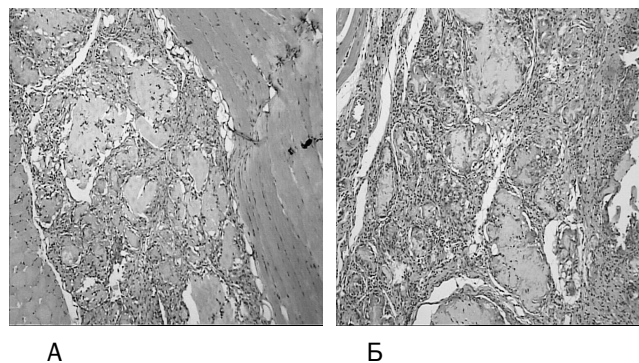


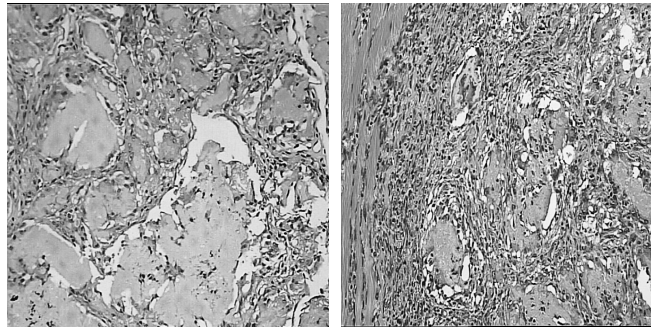
Рисунок 3. Пластика моделированного дефекта передней брюшной стенки, 14 сутки; А – желатиновый гель, окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$, Б – желатиновый гель с инкорпорированными МСК ЖТ, окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

ственными очагами полнокровных капилляров, мелких или средних размеров венул. МГКИТ отсутствовали.

Спустя 4 недели процессы резорбции имплантированного желатинового геля прогрессировали и соответствовали 1,5 (1-2) балла (рис.4А). Установлено увеличение распространенности ($p < 0,05$) тяжелой малоклеточной фиброзной ткани (2 (2-2) балла) между многочисленными инкапсулированными глобулами геля с наличием единичных МГКИТ (0,5 (0,5-0,5) балла). Перифокально в виде узкой полоски прослеживалось формирование клеточной коллагеновой ткани (0,5 (0,5-1) балла) с содержанием фибробластов до 1 (1-2) балла, фиброцитов и макрофагов (0,5 (0,5-0,5) балла). Процессы неангиогенеза были стабильны ($p > 0,05$), на уровне 0,5 (0,5-0,5) балла.

В срезах препаратов с трансплантацией МСК отмечена достоверно ($p < 0,05$) завершающаяся их трансформация в предшественники фибробластов и макрофаги (2,5 (2-3) балла), неравномерная широкая полоса клеточной фиброзной ткани (2 (2-2) балла), клеточный компонент которой превосходил ($p < 0,05$) по количественным значениям соответствующие показатели группы сравнения и был представлен неравномерно расположенными, местами кучно, фиброцитами, многочисленными макрофагами (2 (2-2) балла) и фибробластам (2 (2-3) балла) с единичными их предшественниками (рис. 4Б). Установлена гомогенизация межклеточного матрикса соединительнотканых тяжей, с плотной упакованностью коллагеновых волокон (2 (2-2) балла, при $p < 0,05$ относительно контрольной группы). В толще фиброзной ткани находились диффузно расположенные на всем ее протяжении полиморфные, преимущественно мелкие глобулы геля в состоянии активного рассасывания до 2 (2-2) баллов, превосходящего интенсивность в сравниваемой группе ($p < 0,05$), с впервые выявленными и не достигающим уровня контроля ($p < 0,05$) МГКИТ (0,25 (0-0,5) балла). В толще и перифокально глобулей геля присутствовали мелкие очаги эритроцитов, «мелких» (точечных) капилляров и полнокровных артериол с сохранением ($p > 0,05$) в 2 (2-3) балла выраженности неангиогенеза с одновременным превосходством ($p < 0,05$) в сравнении с изолированной имплантацией желатинового геля.

По завершению 60 суток эксперимента в группе контроля отмечено прогрессирование ($p < 0,05$) резорбции геля (2,5 (2-3) балла). Гель в сохранившихся небольших глобулях, бледный, гомогенный или мелкоячеистый, с уменьшением числа ($p < 0,05$) тонких, мелких тяжей фибробластов до 0,5 (0,5-0,5) балла и единичными «мелкими» капиллярами (0,5 (0,5-0,5) балла). Отмечалось прогрессирование ($p < 0,05$) секторальной диффузной фиброплазия (3 (3-3) балла) глобулей геля с пролиферацией в таких участках мелких эпителиопо-



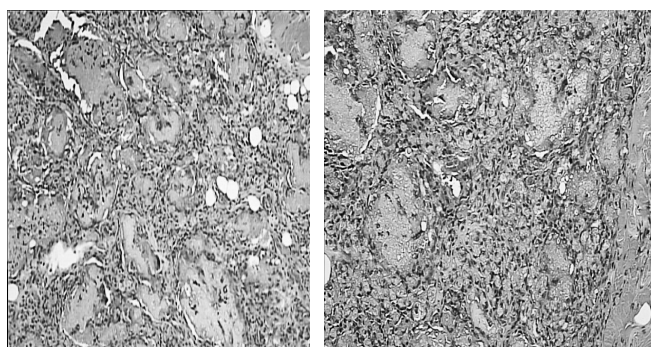
А

Б

Рисунок 4. Пластика моделированного дефекта передней брюшной стенки, 28 суток; А – желатиновый гель, окраска гематоксилином и эозином, х200, Б – желатиновый гель с инкорпорированными МСК ЖТ, окраска гематоксилином и эозином, х200

добных клеток с агрегацией и конденсацией хроматина их ядер и снижением количества ($p < 0,05$) атрофичных МГКИТ до 0,25 (0-0,5) балла. В очагах полиморфных глобулей геля (инкапсулированных) были дополнительно сформированы ($p < 0,05$) межглобулярные полиморфные (тонкие и утолщенные) тяжи клеточно-волоконистой коллагеновой ткани (1 (1-1) балл). Прослеживалось незначительное распространение фиброзной ткани на прилежащий слой мышц и дистрофические изменения отдельных миоцитов и мышечных волокон.

В микропрепаратах основной группы установлена полная ($p < 0,05$) трансформация МСК ЖТ (3 (3-3) балла), на фоне минимальных признаков присутствия геля с выраженной ($p < 0,05$) его резорбцией (3 (2-3) балла), по большей части тотальная инкапсуляция оставшихся глобулей, в толще которых и по периферии находились прогрессивно уменьшающиеся ($p < 0,05$) мелкие группы фибробластов (1,5 (1-2) балла) и макрофагов (0,5 (0-0,5) балла), сформированные капилляры. В большинстве объемных участков глобулей ($p < 0,05$)



А

Б

Рисунок 5. Пластика моделированного дефекта передней брюшной стенки, 60 суток; А – желатиновый гель, окраска гематоксилином и эозином, х100, Б – желатиновый гель с инкорпорированными МСК ЖТ, окраска гематоксилином и эозином, х200

гель был диффузно замещен фиброзной клеточно-волоконистой тканью (3 (3-3) балла). По всей толще зрелой нежно-волоконистой коллагеновой ткани с выраженностью процесса, пре-восходящего ($p < 0,05$) показатели предыдущих сроков наблюдения и группы сравнения (3 (3-3) балла) выявлялись мелкие островки предшественников фибробластов и диффузно разбросанные полнокровные капилляры и вены, что явилось основанием для оценки нами процессов не-оангиогенеза в 2 (2-1) балла, соответственно выше контрольного уровня ($p < 0,05$). Во всех исследованных препаратах МГКИТ отсутствовали. Прилежащая мышечная ткань обычной структуры, отмечается лишь слабо выраженная фиброплазия, граничащих с гелем концевых отделов мышц.

Выводы

1. Трансплантация МСК ЖТ, инкорпорированных в желатиновый гель, в эксперименте приводит к развитию специфических изменений в морфологической картине в области пластики моделированного дефекта: практически полное отсутствие тканевой реакции воспалительного характера в ранних и отдаленных сроках наблюдения, активная пролонгированная стимуляция неангиогенеза, раннее образование полноценной зрелой нежно-волоконистой коллагеновой ткани.

2. Нивелирование проявлений маркеров острого воспаления (на 7 сутки трансплантации) и отсутствие МГКИТ (на 60 сутки эксперимента) подтверждает подавление избыточных фибропластических процессов в области герниопластики при использовании МСК ЖТ.

3. Ранняя инициация неангиогенеза (начиная с 3 суток) и его стабильное ($p < 0,05$) превосходство по активности в течение всего эксперимента, с сохраняющимся превышением в 4 раза к 60 суткам наблюдения в сравнении с показателями контрольной группы (2 (2-2) балла и 0,5 (0,5-0,5) балла соответственно, при $p < 0,05$), указывают на достоверное позитивное влияние цитокиновых эффектов МСК ЖТ на молекулярные и клеточные механизмы образования, ремоделирования и регуляции роста кровеносных сосудов.

4. Естественная регенерация с формированием в области пластики при ауто трансплантации МСК ЖТ зрелой нежно-волоконистой коллагеновой ткани, опережающее в своем проявлении во все сроки наблюдения уровень группы сравнения ($p < 0,05$), возможно, является результатом совместного действия клеточно-заместительного компонента и развития стимулированной паракринной активностью МСК миграции в толщу гелевой композиции собственных клеток фибропластического дифферона.

5. Рациональность выбора желатинового геля в качестве объемного матрикса для трансплантации

МСК ЖТ подтверждается его низкой реактогенностью, отсутствием негативного влияния на процессы естественной репарации, достаточной резорбцией, созданием условий для протекторного действия по отношению к клеточной составляющей.

Литература

1. Богдан, В. Г. Особенности ответной реакции тканей при имплантации хи-рургических сеток из полипропилена и викрила в зоне моделированного дефекта передней брюшной стенки у лабораторного животного / В. Г. Богдан, И. А. Швед, Ю. М. Гаин // Медицинский журнал. – 2011. – №4. – С.37–42.
2. Егиев, В. Н. Современное состояние и перспективы герниологии / В. Н. Егиев // Герниология. – 2006. – № 2 (10). – С.5–10.
3. Жебровский, В. В. Хирургия грыж живота / В. В. Жебровский. – М., 2005. – 368 с.
4. Tissue engineering in abdominal wall surgery / С. Bellows [et al.] // Minerva Chir. – 2011. – №66 (2). – P.129–143.
5. Экспериментальное изучение динамики тканевой реакции в зоне имплантации полипропиленовых сетчатых эндопротезов, покрытых фибробластами / Е. А. Дубова [и др.] // Герниология. – 2007. – № 4. – С. 35–40.
6. Сравнительный анализ полипропиленового и биологического сетчатых имплантатов в эксперименте / А. А. Гостевской [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2007. – Т.7, №3. – С.135–136.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Характеристика мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани человека, дифференцированных в фибробластном направлении / В. Г. Богдан [и др.] // Здоровоохранение. – 2012. – № 4. – С.19–25.
14. Денисов, С. Д. Требования к научному эксперименту с использованием животных / С. Д. Денисов, Т. С. Морозкина // Здоровоохранение. – 2001. – № 4. – С. 40–42.
15. 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.
16. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

Поступила 5.11.2012 г.