

В.Г. БОГДАН, Ю.М. ГАИН

## ПАТОГЕНЕЗ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ГРЫЖ: ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ – ПРИЧИНА ИЛИ СЛЕДСТВИЕ?

УО «Белорусский государственный медицинский университет»<sup>1</sup>,  
ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»<sup>2</sup>,  
Республика Беларусь

**Цель.** Установить характер нарушений метаболизма соединительной ткани в клеточных культурах фибробластов кожи, апоневроза и мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани пациентов с послеоперационными вентральными грыжами.

**Материал и методы.** С использованием метода обратной-транскриптазной полимеразной цепной реакции, фенотипирования клеточных культур, иммуноцитохимических методик изучена экспрессия коллагена III типа и матриксной металлопротеиназы 1 и 2 типа в различных клеточных культурах пациентов с послеоперационными грыжами.

**Результаты.** Установлены общие закономерности, присущие первичным культурам клеток мезенхимального происхождения, указывающие на нарушения метаболизма соединительной ткани у пациентов с послеоперационными вентральными грыжами. Выявлена единая динамика снижения экспрессии коллагена III типа и рост металлопротеиназы 1 при пассировании клеток фибропластического дифферона *in vitro*.

**Заключение.** Вероятной причиной нарушения метаболизма соединительной ткани у пациентов с послеоперационными вентральными грыжами могут быть как генетические изменения, так и длительное существование самого дефекта передней брюшной стенки, который определяет повышенный порог продукции медиаторов, активирующих структуризацию и снижающих ремоделирование соединительной ткани.

*Ключевые слова:* послеоперационная грыжа, патогенез, коллаген, матриксная металлопротеиназа

**Objectives.** To establish the nature of metabolic disturbances of the connective tissue in cell cultures of the skin fibroblasts, aponeurosis, and mesenchymal stem cells of the adipose tissue of patients with postoperative ventral hernias.

**Methods.** The expression of collagen type III and matrix metalloproteinase 1 and 2 types in various cell cultures of patients with postoperative hernias was studied using the method of reverse transcriptase polymerase chain reaction, phenotyping of cell cultures, immuno-cytochemical techniques.

**Results.** General regularities inherent in primary cultures of cells of mesenchymal origin were determined indicating to the metabolic disturbance of the connective tissue in patients with the postoperative ventral hernias. A single dynamics of the expression of collagen type III decrease and metalloproteinase 1 increase at cells passaging of the fibroplastic differon *in vitro* was revealed.

**Conclusions.** The probable cause of metabolic disturbances of the connective tissue in patients with postoperative ventral hernias may be either genetic changes or long-lasting presence of the abdominal wall defect, which determines the increased threshold of the production of mediators, activating the structuring and reducing the remodeling of the connective tissue.

*Keywords:* postoperative hernia, pathogenesis, collagen, matrix metalloproteinase

### Введение

Развитие современной науки в последние десятилетия позволило в определенной степени подтвердить и обосновать многогранность патогенеза грыж живота в целом и послеоперационных грыж в частности. В основе биохимической концепции развития и рецидивирования грыж лежат выявленные изменения метаболизма коллагена, которые приводят к уменьшению механической прочности соединительной ткани [1, 2, 3, 4, 5].

В целом, проведенные исследования вы-

деляют наследственные нарушения соединительной ткани (ННСТ), которые представляют собой гетерогенную группу заболеваний, обусловленных генетическими дефектами синтеза и/или распада белков внеклеточного матрикса, либо нарушением морфогенеза соединительной ткани, в качестве одного из факторов, способствующих развитию грыж передней брюшной стенки [6, 7, 8, 9]. Основными причинами развития ННСТ являются мутации генов, ответственных за синтез или распад компонентов экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани. В первую очередь, это

касается коллагенов различных типов и матричных металлопротеиназ (ММП) [6, 7, 8, 9].

ННСТ разделяют на дифференцированные и недифференцированные. Дифференцированные дисплазии соединительной ткани характеризуются определенным типом наследования, отчетливой клинической картиной, установленными генными или биохимическими дефектами. Недифференцированные дисплазии соединительной ткани (НДСТ) – нарушения структуры и функции соединительной ткани, по своим фенотипическим и клиническим проявлениям не укладывающиеся в известные моногенные ННСТ и иные диспластические синдромы и фенотипы [8, 9].

Диагностика ННСТ, основанная на выявлении внешних и висцеральных признаков дисплазий (фенов), сопряжена с определенными сложностями. Практически все признаки могут выступать как самостоятельный изолированный дефект соединительной ткани, так и как проявление системной наследственной патологии и действия дефектных генов. Более того, у лиц старших возрастных групп одни фены, ассоциирующиеся с ННСТ, могут быть связаны с процессами старения, проявление других с возрастом может уменьшаться. Именно поэтому возникает необходимость выполнения дополнительных инструментальных, молекулярно-генетических, иммуногистохимических или иных специальных исследований, позволяющих уточнить диагноз [7, 8, 9].

Особый интерес представляют работы по изучению уровня фибриллярных коллагенов (I и III типа) и ММП у пациентов с наружными грыжами живота [1, 3, 4, 5, 10, 11, 12, 13].

Многочисленными исследованиями установлено значительное снижение соотношения коллагена I/III в фасциально-апоневротических образованиях, грыжевом мешке, коже и крови у пациентов с первичными, рецидивными паховыми и послеоперационными вентральными грыжами (ПОВГ), связанное с относительным увеличением содержания коллагена III типа, который, характеризуется тонким диаметром волокон и низкой механической прочностью. Выявленные нарушения могут являться ведущей причиной образования грыж [1, 3, 4, 5, 10, 11]. Вместе с тем, остаются не изученными особенности синтеза коллагенов при пассировании культур фибробластов, полученных из разных источников, и мезенхимальных стволовых клеток (МСК) жировой ткани (ЖТ).

ММП играют главную роль в обмене белков межклеточного матрикса и в целом в ремоделировании соединительной ткани. На

основании структурной организации и специфичности в семействе ММП выделены 4 подсемейства: коллагеназы, желатиназы, стромелизины и остальные ММП [14].

Несмотря на большое количество исследований, достоверно установлено влияние ММП на герниогенез только у пациентов с первичными (паховыми) грыжами. Так, сверхэкспрессия ММП-2 выявлена у лиц с прямыми паховыми грыжами, минимальный уровень ММП-1 определен у пациентов с прямыми и косыми паховыми грыжами, незначительное повышение ММП-1 и ММП-13 отмечено при рецидивных паховых грыжах [12, 13, 15, 16]. Единичные работы, посвященные роли матриксных металлопротеиназ в генезе ПОВГ, имеют недостоверные (а порой и противоречивые) результаты без оценки функционального состояния культур МСК ЖТ и фибробластов [1, 3, 11, 12].

**Цель.** Установить характер нарушений метаболизма соединительной ткани на основании оценки экспрессии мРНК коллагена III типа и матриксной металлопротеиназы I и II типа в различных клеточных культурах мезенхимального происхождения (фибробласты кожи, апоневроза и мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани) у пациентов с послеоперационными вентральными грыжами.

## Материал и методы

В качестве материалов исследования использовали:

культуры различных пассажей мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, фибробластов кожи и апоневроза передней брюшной стенки 5-ти пациентов с послеоперационными вентральными грыжами больших размеров [2 мужчин (57 и 59 лет) и 3 женщины (45, 52 и 53 лет)]; длительность грыжевого анамнеза – 2,4+1,1 года, без послеоперационных раневых осложнений);

культуру постнатальных фибробластов человека линии Foreskin (Human Foreskin Fibroblasts – HFF) [коллекция ATCC CRL 2429, ИИЦ РАН].

Забор биологического материала для выделения МСК ЖТ у пациента с ПОВГ больших размеров выполняли инцизионным способом в области грыжевых ворот. Фрагмент подкожной жировой клетчатки в объеме до 10 см<sup>3</sup>, участок кожи и апоневроза площадью до 2 см<sup>2</sup> после забора помещали в герметичный контейнер со стерильным физиологическим раствором и затем транспортировали его в течение ближайших 2 часов в лабораторию для

выделения и культивирования мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани и культур фибробластов.

Для выделения МСК ЖТ гомогенизированную жировую ткань (n=5) промывали стерильным раствором Хенкса и инкубировали в течение 45 минут с 0,075% раствором коллагеназы I типа (Sigma) в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) при 37°C. Нейтрализацию фермента проводили равным объемом ФСБ, содержащего 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (НИИ ЭиМ, РБ). Полученные в результате обработки коллагеназой клетки отмывали два раза центрифугированием, клеточный осадок ресуспензировали в культуральной среде DMEM с пониженным содержанием глюкозы 1000 мг/мл («Sigma», США) с добавлением 10% ЭТС, 100 U/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 2 mM L-глутамин и высевали в концентрации  $5 \times 10^4$  клеток на  $1 \text{ см}^2$  в культуральные чашки диаметром 60 мм [17].

Через 24 часа производили смену культуральной среды для удаления неприкрепившихся клеток. В дальнейшем смену среды производили каждые четвертые сутки. По достижении культурами 75% конфлюэнтности клетки снимали с поверхности культурального пластика с помощью 0,25% раствора трипсина/ЭДТА, затем трипсин ингибировали добавлением ФСБ, содержащего 10% ЭТС. После двукратного отмывания центрифугированием клетки засевали в культуральные чашки в концентрации  $1 \times 10^4$  клеток на  $\text{см}^2$  для получения первого пассажа с целью наращивания необходимой биомассы клеток и криоконсервации.

Для выделения фибробластов человека проведен забор фрагментов кожи и апоневроза передней брюшной стенки (n=5). Для расслоения кожи по базальной мембране и отделения дермы от эпидермиса кусочки кожи размером  $1 \text{ см}^2$  инкубировали в 0,25% диспазе в течение 24 часов при 4°C. Дерму или фрагмент апоневроза передней брюшной стенки промывали стерильным раствором Хенкса, нарезали на участки размером  $0,5 \text{ см}^2$  и инкубировали в течение 2 часов с 0,2% раствором коллагеназы I типа (Sigma, США) в ФСБ при 37°C. Нейтрализацию фермента проводили равным объемом ФСБ, содержащего 10% ЭТС. Полученные в результате обработки коллагеназой клетки отмывали два раза центрифугированием, клеточный осадок ресуспензировали в культуральной среде IMDM (Sigma, США) с добавлением 10% ЭТС, 100 U/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 2 mM L-глутамин и высевали в концентрации  $5 \times 10^4$  клеток на  $1 \text{ см}^2$  в культуральные чашки диаметром 60 мм [17].

Смену среды производили каждые четвертые сутки.

Культуры исследовали на универсальном инвертированных микроскопах Micros (Австрия) и Carl Zeiss Axiovert 200 (Германия) с применением методов светлого поля, бокового освещения, фазового и Varel-контрастов, эпифлуоресценции (окраска акридиновым оранжевым и Хекстом 33342/пропидий йодидом).

Для иммуноцитохимического окрашивания использовали неконфлюэнтные культуры МСК жировой ткани человека различных пассажей, культуру второго пассажа постнатальных фибробластов человека, культивируемые в 24-х луночных планшетах в среде DMEM/IMDM (для фибробластов), содержащей 10% ЭТС, 1% антибиотика и 1% L-глутамин. Клетки дважды промывали от питательной среды раствором ФСБ, фиксировали на поверхности культурального пластика 4% параформальдегидом в течение 15 минут, а затем пермеабелизировали 15 минут в растворе 2% тритона X-100 в ФСБ. Внутриклеточную пероксидазу блокировали 3% перекисью водорода. Клетки тщательно отмывали в ФСБ и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре с первичными антителами: мышинными МАТ к MMP2 (Abcam, Англия) и коллагену III типа (Beckman Coulter, США). Визуализацию образовавшихся комплексов «антиген-антитело» проводили с использованием набора LSAB+System-HRP (Dako, США) согласно инструкции производителя. Экспрессию маркеров оценивали с помощью инвертированного микроскопа «Axiovert 200» («Carl Zeiss»).

Для изучения экспрессии использовали мышинные моноклональные антитела (МАТ) к внутриклеточному маркеру фибробластов [5B5] (Abcam, Англия). Для внутриклеточного окрашивания клетки предварительно фиксировали и пермеабелизировали с использованием набора IntraPrep™ Permeabilization Reagent. Затем клеточную суспензию разделяли на две пробы - контрольную и экспериментальную (с концентрацией клеток в каждой из них  $1 \times 10^5/200$  мкл ФСБ). Для окрашивания поверхностными моноклональными антителами МСК переносили в пробирки для проточной цитометрии и инкубировали с моноклональными антителами в течение 15 минут в темноте при комнатной температуре. Измерения проводили с использованием проточного цитометра FC 500 (Beckman Coulter, США).

Для проведения молекулярного анализа методом обратнo-транскриптазной реакции (ОТ-ПЦР) были выбраны следующие мар-

керные гены – COL3A1 (коллаген III типа) и MMP1 (металлопротеиназа-1 либо колагеназа фибробластов). Клеточная культура остеосаркомы человека (NOS) выбрана в качестве положительного контроля для дальнейшей оценки экспрессии мРНК коллагена III типа и металлопротеиназы-1 в изучаемых образцах.

Выделение РНК проводили с использованием коммерческого набора RNeasy Mini Kit («Qiagen», США), для чего клетки, полученные в ходе трипсинизации клеточных культур, в концентрации  $5 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ /мл лизировали в 350 мкл RLT-буфера и пипетировали до полной гомогенизации. Гомогенизированный клеточный лизат хранили при  $-70^\circ\text{C}$ . К клеточному лизату добавляли равный объем 70 этанола. Полученный объем образца (700 мкл), включая преципитаты, которые могут образовываться при добавлении этанола, переносили на мембрану, помещенную в 2 мл коллекторную пробирку, и центрифугировали при 8000xg 15 секунд. Затем аспират полностью удаляли, а на поверхность мембраны добавляли 700 мкл RW1-буфера, центрифугировали при 8000xg 15 секунд. Полученный аспират удаляли, добавляли 500 мкл RPE-буфера на поверхность мембраны и центрифугировали при 8000xg 2 минуты. Мембрану переносили в пробирку объемом 1,5 мл, добавляли в центр мембраны 30-50 мкл дистиллированной воды и центрифугировали при 8000xg 1 минуту.

Спектрофотометрическое определение качества и количества РНК проводили на спектрометре GeneQuant (Швеция). При этом оценивали примесь белков по соотношению поглощения ультрафиолетового света с длиной волны 260 нм (для нуклеиновых кислот) и 280 нм (для белков) [260/280] и примесь углеводов по соотношению 260/230 нм. Образец суммарной РНК считали чистым при значении показателей более 1,8.

Применяли метод обратной транскрипции, заключающийся в синтезе комплементарных цепочек ДНК (кДНК), используя в качестве матрицы выделенную РНК. Для этого к

пробе, содержащей 100 нг – 5 мкг выделенной РНК, добавляли 1 мкл 0,2 мкг/мкл случайных праймеров (Random Hexamer). Объем образца доводили до 12,5 мкл дистиллированной водой, быстро перемешивали и инкубировали при  $65^\circ\text{C}$  в течении 5 минут для деградации вторичной структуры молекул нуклеиновой кислоты. К охлажденной пробе добавляли смесь компонентов:

- 5X reaction buffer for Reverse Transcription – 4 мкл;
- RNase Inhibitor (40U/мкл) – 0,5 мкл;
- dNTP Mix, 10mM каждого – 2 мкл (1mM конечная концентрация);
- M-MuLV Reverse Transcriptase (20U/мкл) – 2 мкл.

Реакционную смесь перемешивали и инкубировали в амплификаторе в течении 10 минут при  $25^\circ\text{C}$ , 60 минут при  $45^\circ\text{C}$  и 10 минут при  $70^\circ\text{C}$ . Все смеси и компоненты, используемые для синтеза кДНК, содержали.

Для постановки обратно-транскриптазной полимеразной цепной реакции в реальном времени использовали праймеры к коллагену III типа и металлопротеиназе I типа [Прайм-Тех, Беларусь] (таблица 1).

Основу реакционной смеси составлял TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems), в состав которого входил фермент урацил-N-гликозилаза (UNG AmpErase), позволяющий предотвратить повторную реамплификацию продуктов при перекрестной контаминации продуктов ПЦР. К 2x TaqMan Master Mix добавляли смесь праймеров (40 мМ) и пробы (200мМ) и доводили объем H<sub>2</sub>O до 20 мкл. Для постановки ОТ-ПЦР 5 мкл кДНК исследуемых образцов добавляли к 20 мкл реакционной смеси. Для нормализации возможных вариаций в количестве и качестве РНК в качестве референс-гена, экспрессируемого на постоянном уровне во всех экспериментальных образцах, использовался ген глицеральдегид-3 фосфат дегидрогеназы (GAPDH). Амплификацию и уровень экспрессии гена определяли с применением прибора

Таблица 1

## Характеристика праймеров

| Символ | Название гена             | Последовательность праймера (5'-3')                      | Последовательность пробы (5'-3') |
|--------|---------------------------|--|----------------------------------|
| COL3A1 | коллаген III типа         | F-CCCACTATTATTTTGGCACAACAG<br>R-AACGGATCCTGAGTCACAGACA   | ATGTTCCCATCTTGGTCAGTCCTA<br>TGCG |
| MMP1   | металло-протеиназа I типа | F-CGGTTTTTCAAAGGGAATAAGTACT<br>R-TCAGAAAGAGCAGCATCGATATG | AATGTGCTACACGGATACCCCAAG<br>GACA |

и программного обеспечения iCycler (BioRad, США).

Статистическая обработка данных осуществлена с применением прикладного программного пакета «STATISTICA 6,0». Проверку статистических гипотез о виде распределения количественных признаков осуществляли на основании критерия Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W test). По данным проведенных исследований рассчитаны медиана (Me) и интерквартильный размах (25-й; 75-й процентиля). 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). Для анализа взаимосвязи двух признаков использовали метод ранговой корреляции Спирмена ( $\rho$ ). Различия считали достоверными при  $p < 0,05$  [18].

### Результаты и обсуждение

Для достоверного исключения влияния ННСТ на результаты исследования в качестве положительного контроля была выбрана культура постнатальных фибробластов человека линии Foreskin (Human Foreskin Fibroblasts – HFF) [коллекция ATCC CRL 2429, ИИЦ РАН].

Сравнительный анализ иммуноцитохимического исследования экспрессии коллагена III типа и MMP-2 первичной культуры МСК ЖТ и фибробластов человека 3-го пассажа линии Foreskin представлен на рисунке 1 (см. цв. вкладыш).

Установлено, что первичная культура МСК ЖТ пациентов с ПОВГ характеризуется более высокой степенью экспрессии коллагена III типа в сравнении с HFF (рис. 1 Б). В то время как экспрессия MMP-2 во всех изучаемых культурах отсутствует (рис. 1 В).

Для объективной оценки способности к структуризации соединительной ткани клеточных культур мезенхимального происхождения, полученных из различных источников у пациентов с ПОВГ, проведена оценка экспрессии мРНК коллагена III типа (рис. 2).

Первичные культуры МСК ЖТ, фибробластов кожи и апоневроза характеризуются значительно более высоким уровнем экспрессии мРНК коллагена III типа ( $p < 0,05$ ) по сравнению с культурой контроля (HFF). При этом фибробласты апоневроза достоверно ( $p < 0,05$ ) больше экспрессируют мРНК коллагена III типа (292,6 [281,9–301,9]), чем культуры МСК

ЖТ и фибробласты кожи (139 [137,8–150,1] и 182,3 [109–196,1] соответственно).

Полученные результаты с одной стороны согласуются с данными предыдущих исследований [1, 3, 4] и подтверждают возможное наличие ННСТ у пациентов с ПОВГ. С другой стороны, вероятной причиной может являться длительное существование самого дефекта передней брюшной стенки, который определяет повышенный порог продукции медиаторов, активирующих синтез незрелой соединительной ткани с накоплением коллагена III типа. Подтверждает наши предположения достоверная ( $p < 0,05$ ) динамика снижения экспрессии мРНК коллагена III типа при пассировании клеток фибропластического дифферона *in vitro* во всех изучаемых культурах, когда нивелируется влияние внешних стимулирующих факторов.

Вместе с тем только в культуре МСК ЖТ первого пассажа экспрессия коллагена III типа достоверно ( $p > 0,05$ ) не отличалась от HFF (50,6 [45,7–57,9] и 46,9 [41,5–49,5] соответственно), тогда как в образцах фибробластов кожи и апоневроза все еще сохранялись повышенные ( $p < 0,05$ ) значения (87,5 [71,9–103,5] и 136,2 [124,3–148,9]).

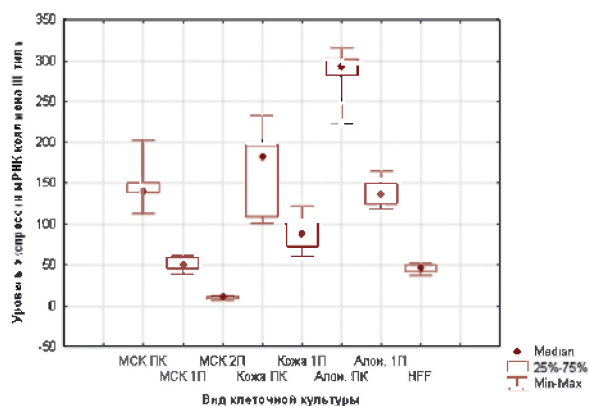
Относительный уровень экспрессии мРНК MMP1 во всех изучаемых культурах был достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже значений культуры HFF (рис. 3).

Последующее культивирование позволило установить следующие закономерности. Фибробласты апоневроза характеризовались ростом ( $p < 0,05$ ) экспрессии MMP1 с 5,9 (5,2–6,9) до 8,8 (7,3–9,1), а МСК ЖТ – снижением ( $p < 0,05$ ) с 5,8 (5,0–6,1) до 1,8 (1,3–2,5), тогда как в культуре фибробластов кожи, какая либо динамика отсутствовала 6,1 (5,4–7,1) и 7,1 (6,3–7,5) соответственно ( $p > 0,05$ ).

Нами установлено, что уменьшение экспрессии внутриклеточного маркера фибробластов [5B5] с 95,9 (90,1–98,3) до 79,1 (79–79,6) в первичной культуре и во втором пассаже МСК ЖТ соответственно ( $p < 0,05$ ), коррелировало, как с падением уровня коллагена III типа ( $\rho = 0,73$ ;  $p = 0,01$ ) с 139 (137,8–150,1) до 10,9 (8,5–11,2) [ $p < 0,05$ ], так и со снижением значений экспрессии мРНК MMP1 ( $\rho = 0,71$ ;  $p = 0,02$ ) с 5,8 (5,0–6,1) до 1,2 (1,1–2,1) [ $p < 0,05$ ], что возможно, явилось следствием снижения содержания дифференцированных форм фибробластов при пассировании.

### Заключение

1. Установленные общие закономерности



**Рис. 2.** Относительный уровень экспрессии мРНК коллагена III типа в различных клеточных культурах пациентов с ПОВГ

**Примечание:** МСК ПК – первичная культура МСК ЖТ; МСК 1П – первый пассаж МСК ЖТ; МСК 2П – второй пассаж МСК ЖТ; кожа ПК – первичная культура фибробластов кожи; кожа 1П – первый пассаж фибробластов кожи; апон. ПК – первичная культура фибробластов апоневроза; апон. 1П – первый пассаж фибробластов апоневроза; НФФ – фибробласты линии Foreskin.

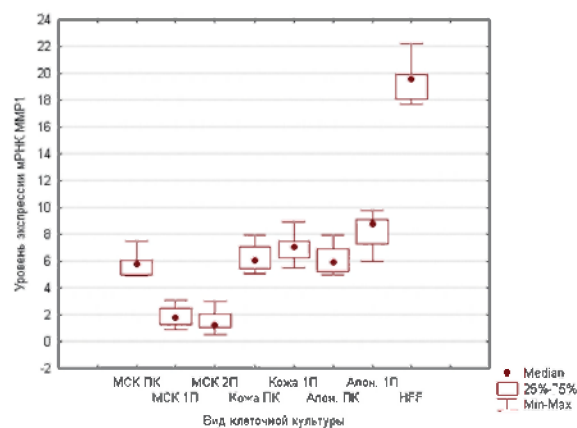
(высокий уровень экспрессии мРНК коллагена III типа и низкий металлопротеиназы I типа), присущие первичным культурам мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, фибробластов кожи и апоневроза пациентов с послеоперационными вентральными грыжами указывают на имеющиеся нарушения метаболизма соединительной ткани, которые приводят к снижению ее прочности.

2. Возможным подтверждением наследственных нарушений соединительной ткани у пациентов с послеоперационными вентральными грыжами являются сохраняющиеся при последующих культивированиях изменения функционального состояния фибробластов кожи и апоневроза, отличные от культуры контроля (НФФ).

3. Выявлена единая достоверная ( $p < 0,05$ ) динамика снижения экспрессии мРНК коллагена III типа при пассировании клеток фибропластического дифферона *in vitro* во всех изучаемых культурах, когда нивелируется влияние внешних стимулирующих факторов.

4. Рост экспрессии мРНК металлопротеиназы I типа при культивировании фибробластов апоневроза и отсутствие отрицательной динамики в культурах фибробластов кожи указывает на функциональную обратимость имеющихся изменений.

5. Падение уровня экспрессии мРНК коллагена III типа и металлопротеиназы I типа в



**Рис. 3.** Относительный уровень экспрессии мРНК металлопротеиназы I типа в различных клеточных культурах пациентов с послеоперационными вентральными грыжами

**Примечание:** МСК ПК – первичная культура МСК ЖТ; МСК 1П – первый пассаж МСК ЖТ; МСК 2П – второй пассаж МСК ЖТ; кожа ПК – первичная культура фибробластов кожи; кожа 1П – первый пассаж фибробластов кожи; апон. ПК – первичная культура фибробластов апоневроза; апон. 1П – первый пассаж фибробластов апоневроза; НФФ – фибробласты линии Foreskin.

культурах мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, коррелирующее с уменьшением экспрессии внутриклеточного маркера фибробластов [5B5], возможно является следствием снижения содержания дифференцированных форм фибробластов при пассировании.

6. Вероятной причиной нарушения метаболизма соединительной ткани у пациентов с послеоперационными вентральными грыжами могут быть как генетические изменения, так и длительное существование самого дефекта передней брюшной стенки, который определяет повышенный порог продукции медиаторов, активирующих структуризацию и снижающих ремоделирование соединительной ткани.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Collagen I / III and matrix metalloproteinases (MMP) 1 and 13 in the fascia of patients with incisional hernias / U. Klinge [et al.] // J. Invest. Surg. – 2001. – Vol. 13. – P. 47-54.
- Егиев, В. Н. Современное состояние и перспективы герниологии / В. Н. Егиев // Герниология. – 2006. – № 2 (10). – С. 5-10.
- Гостевской, А. А. Нерешенные вопросы протезирования передней брюшной стенки при грыжах / А. А. Гостевской // Вестн. хирургии. – 2007. – Т. 166, № 6. – Ч. II. – С. 93-95.
- Abnormal primary tissue collagen composition in the skin of recurrent incisional hernia patients / B. White [et al.] // Am. Surg. – 2007. – Vol. 73. – P. 1254-1258.