

ПОНОМАРЕВА Ю.В.¹, СУПИЛЬНИКОВ А.А.¹, КОРОЛЕВ М.В.²

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ БРЮШИНЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ АЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ МАТРИКСОВ

¹Медицинский университет «Реавиз», кафедра морфологии и патологии, г. Самара

²Медицинский университет «Реавиз», кафедра хирургических болезней, г. Самара

PONOMAREVA J.V.¹, SUPILNIKOV A.A.¹, KOROLEV M.V.²

FEATURES OF PERITONEAL REGENERATION WHEN USING ACELLULAR SCAFFOLDS

¹Medical University Reaviz, department of morphology and pathology, Samara

²Medical University Reaviz, department of surgical diseases, Samara

Резюме. Поиск новых материалов и средств, препятствующих формированию спаек брюшной полости, остается актуальной задачей современной реконструктивно-восстановительной хирургии. В качестве возможного решения рассмотрен ацеллюлярный матрикс, представляющий собой высокоочищенный нативный фибриллярный коллаген дермы. В эксперименте изучена его биосовместимость, адгезивный и регенеративный потенциал *in vivo*. Продемонстрировано, что ремезотелизация является более длительным процессом, чем сроки действия антиадгезивных барьеров, при этом, синтетические имплантаты, инициирующие и поддерживающие хроническую воспалительную реакцию, делают ее невозможной.

Ключевые слова: брюшина, неоперитонеум, регенерация, ацеллюлярный матрикс.

Resume. The search for new materials and means that prevent adhesions in the abdominal cavity remains an urgent task of modern reconstructive surgery. A possible solution is the acellular matrix, which is a highly purified native fibrillar collagen of the dermis. The experiment studied its biocompatibility, adhesive and regenerative potential *in vivo*. It has been demonstrated that remesothelization is a longer process than the duration of action of anti-adhesive barriers, while synthetic implants that initiate and maintain a chronic inflammatory response make it impossible.

Keywords: peritoneum, neoperitoneum, regeneration, acellular matrix.

Актуальность. К развитию спаечной болезни брюшной полости приводят механические воздействия, воспалительные или неопластические процессы. Реакция на повреждение брюшины сопровождается миграцией, пролиферацией и дифференцировкой групп клеток предшественников. При естественно протекающих процессах, воспалительная реакция является краткосрочной и не сдерживает восстановление слоя мезотелиальных клеток. Ее персистирование, в том числе из-за присутствия инородных тел, которыми для организма являются различные имплантаты, эндопротезы и дренажные системы, приводит к фиброзу

и рубцеванию не только брюшины, но и окружающих тканей. Все это составляет патогенетическую основу спаечной болезни [1].

Для профилактики спаечной болезни при вмешательствах на органах брюшной полости или реконструктивно-восстановительных операциях на передней брюшной стенке, в частности при вентральных грыжах, применяют антиадгезивные барьеры в виде вязких гелей или мембран, которые могут быть нанесены, как на поврежденную брюшину, так и входить в состав протезирующего материала. Однако результаты применения таких барьеров носят противоречивый характер и требуют дальнейшего поиска решений, которые могут найти применение в клинике [2]. В качестве перспективных материалов могут быть рассмотрены аллогенные или ксеногенные матриксы, получаемые из дермы поэтапной очисткой от клеток, белков, нуклеиновых кислот и, сохраняющих в готовом виде нативную фибриллярную трехмерную структуру коллагена.

Цель исследования. Оценить адгезивные и регенеративные свойства ацеллюлярного дермального матрикса ксеногенного происхождения в условиях ремезотелизации *in vivo*.

Материалы и методы исследования. Ацеллюлярные матриксы 0,5x0,5 см получены по разработанному протоколу из кожи удаленного кожно-подкожно-жирового лоскута при реконструктивно-восстановительном вмешательстве по поводу гигантской послеоперационной вентральной грыжи на основании добровольного информированного согласия пациента. Количество остаточной ДНК в матриксе определяли по протоколу (DNA Quantitation Kit, Sigma-Aldrich); остаточное количество нейтральных липидов - по унифицированному методу определения триглицеридов по глицерину (Карпищенко А.И., 1999). Стерилизация образцов осуществлена химическим способом (5% раствор надуксусной кислоты).

Оценка антиспечного и регенеративного потенциала ацеллюлярных матриксов выполнена на основной группе крыс стока Wistar обоего пола (n=21). Образцы имплантировали на предварительно десерозированную переднюю стенку тела желудка и фиксировали по периметру отдельными узловыми швами нитями пролен 8/0. Крысам группы положительного контроля (n=21) аналогичным образом имплантировали композитный эндопротез на основе полипропилена и окисленной регенерированной целлюлозы. В группе отрицательного контроля (n=18) десерозированную поверхность не закрывали. На 28, 45 и 90 сутки оценили выраженность и распространенность спаечного процесса в баллах (Whang S.H et al, 2011). Мезотелиальный слой идентифицирован ИГХ-методом на гистологических препаратах по экспрессии НВМЕ-1.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли при помощи критерия Манна-Уитни (U-критерий). Достоверными считали результаты в попарно сравниваемых группах, при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. По данным гистологического исследования готовые образцы матриксов полностью повторяли трехмерную структуру

нативной дермы человека, без фрагментов клеток и ядер в межфибриллярных пространствах. Содержание остаточной ДНК в образцах не превышало 50 пг/мг; нейтральные липиды отсутствовали.

К 28 суткам матрикс плотно срастался с передней стенкой желудка. Признаков адгезивного процесса в брюшной полости не выявлено (0;0 баллов). Гистологическая структура коллагеновых волокон матрикса сохранена, при этом его межфибриллярные пространства неравномерно заполнены рыхлой неоформленной соединительной тканью; на периферии многочисленные тонкостенные капилляры с эритроцитами в просвете на фоне незначительной диффузной инфильтрации клетками хронического воспаления. Клеток, экспрессирующих НВМЕ–1 на поверхности материала, обращенного интраперитонеально, не обнаружено. К 45 и 90 суткам матрикс остается плотно сращенным с подлежащими тканями. Признаков адгезивного процесса в брюшной полости не выявлено. Межфибриллярные пространства образцов равномерно заполнены соединительной тканью. Между мышечным слоем передней стенки желудка и поверхностью матриксов – прослойка гиперваскулярной соединительной ткани. На поверхности матрикса, обращенной интраперитонеально, только к 90 суткам обнаружен слой мезотелиальных клеток, определяемых по выраженной цитоплазматической и мембранной экспрессии НВМЕ–1.

В группе положительного контроля к 28 суткам имплантаты плотно сращены с передней стенкой желудка. Макроскопически признаки адгезивного процесса у 2 крыс от 1 до 2 баллов на площади от 1 –до 2 баллов. Гистологически признаки интеграции композитного протеза на фоне умеренно выраженной хронической воспалительной реакции. Клеток, экспрессирующих НВМЕ–1 на поверхности, покрытой окисленной восстановленной целлюлозой не выявлено. К 45 суткам у 5 крыс выявлены спайки от 1 до 2 баллов на площади от 1 до 2 баллов. В окружающих имплантат тканях сохраняются признаки хронической воспалительной реакции с формированием многочисленных гранулем инородных тел и развитием фиброзной ткани на периферии. К 90 суткам, также, у 5 из 7 животных выявлены спайки от 2 до 3 баллов по структуре и не более 2 баллов по занимаемой ими площади.

В группе отрицательного контроля, практически у всех крыс спаечный процесс развивался к 28 суткам и прогрессировал к 90 суткам по структуре спаек от 1 до 3 баллов, при этом, оставался стабильным по занимаемой площади - от 2 до 3 баллов. Гистологически на ранее десерозированной поверхности признаки венозного полнокровия, умеренного воспаления и разрастания фиброзной ткани. Экспрессия НВМЕ–1 была выявлена лишь на периферии серозной оболочки органов, не затронутых спаечным процессом.

Попарное сравнение бальных значений, характеризующих спаечный процесс с использованием U-критерия, показало наличие достоверных отличий между экспериментальной группой и группой положительного контроля, а также между этими группами и животными отрицательного контроля.

Выводы. Ремезотелизация является сравнительно длительным процессом, протекающей в условиях специфического клеточного микроокружения. Применяемые покрытия в составе композитных материалов, создают относительно краткосрочные благоприятные условия для регенерации мезотелиоцитов, однако их синтетическая основа поддерживает хроническую воспалительную реакцию с формированием многочисленных гранул инородных тел. Ацеллюлярные матриксы в эксперименте продемонстрировали свои антиадгезивные и регенеративные потенциалы, поскольку их присутствие не инициировало и не поддерживало хроническую воспалительную реакцию.

Список литературы

1. Capobianco A., Cottone L., Monno A. et al. The peritoneum: healing, immunity, and diseases. *J Pathol.* 2017 Oct; 243(2):137-147. DOI: 10.1002/path.4942.
2. Stratakis K., Kalogiannis E., Thanopoulos A. et al. Mechanisms and Therapeutic Approaches for Peritoneal Adhesions: A Comprehensive Review. *Chirurgia (Bucur).* 2023 Apr;118(2):113-126. DOI: 10.21614/chirurgia.2840.