

## ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОК ФИБРОБЛАСТИЧЕСКОГО ДИФФЕРОНА ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ МОДИФИЦИРОВАННОГО ГЕРНИОПРОТЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Лазаренко В. А., Ушанов А. А., Иванов И. С., Мишина Е. С.

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО «КГМУ»), 305041, ул. Карла Маркса, д. 3, Курск, Россия

**Для корреспонденции:** Ушанов Александр Александрович, аспирант, кафедра хирургических болезней №1, ФГБОУ ВО «КГМУ», e-mail: ushanovaa@kursksmu.net

**For correspondence:** Alexander A. Ushanov, postgraduate student, Department of Surgical Diseases No.1, Kursk State Medical University, e-mail: ushanovaa@kursksmu.net

### Information about authors:

**Lazarenko V. A.**, <https://orcid.org/0000-0002-2069-7701>

**Ushanov A. A.**, <https://orcid.org/0000-0003-0876-0656>

**Ivanov I. S.**, <https://orcid.org/0000-0003-4408-961X>

**Mishina E. S.**, <https://orcid.org/0000-0003-3835-0594>

### РЕЗЮМЕ

Грыжи передней брюшной стенки остаются одной из самых распространенных патологий. Окончательного и эффективного метода лечения и профилактики послеоперационных осложнений не существует. Одной из методик усовершенствования операции герниопротезирования является имплантация модифицированных протезов с нанесенной культурой фибробластов. Цель исследования. Количественная оценка фибробластического дифферона при имплантации модифицированного сетчатого протеза в сравнении с серийно выпускающимися. Материал и методы. На модифицированные с помощью раствора поликапролактона по оригинальной методике герниопротезы «Эсфил стандартный» и «Унифлекс стандартный» наносилась культура нативных фибробластов. Герниопротезы имплантировались в смоделированный грыжевой дефект лабораторной крысы. На сроках 7, 10, 14, 21, 28 суток лабораторные крысы усыплялись передозировкой ингаляционного анестетика, с целью гистологического исследования выполнялся забор участка передней брюшной стенки с последующей окраской гематоксилин+эозин для гистологического исследования. Оценивалась морфологическая картина, производился подсчет фибробластов и фиброцитов. Результаты. При изучении морфологической картины обнаружено, что в группе с нанесенной на поверхность герниопротеза культурой фибробластов их количество с течением времени планомерно увеличивается. Соединительная ткань, окружающая протез, в этой группе созревает раньше, нежели в других. Количество фиброцитов было больше в группах с применением герниопротеза Эсфил стандартный, тогда как в группах с применением герниопротеза Унифлекс стандартный без модификации обеспечила лучшее накопление фибробластов в ране. Обсуждение. Полученные данные свидетельствуют об эффективности процедуры модификации герниопротезов с помощью вещества поликапролактона с последующим нанесением культуры фибробластов. Выводы. Нанесение поликапролактона на серийный сетчатый герниопротез эффективно для доставки фибробластов в операционную рану. При нанесении фибробластов на герниопротез и последующем внесении их в рану фаза пролиферации воспалительного процесса наступает раньше относительно группы с использованием немодифицированного протеза.

**Ключевые слова:** вентральная грыжа, фибробласты, поликапролактон, сетчатый протез, модель грыжи.

### STUDY OF FIBROBLASTIC DIFFERON CELLS DURING IMPLANTATION OF A MODIFIED HERNIOPROSTHESIS IN AN EXPERIMENT

Lazarenko V. A., Ushanov A. A., Ivanov I. S., Mishina E. S.

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

### SUMMARY

Hernias of the anterior abdominal wall continue to be one of the most common surgical conditions. There is still no definitive or effective method for treating or preventing postoperative complications. However, one technique that has been proposed to improve hernioplasty outcomes is the implantation of modified prosthetic materials with applied fibroblast cultures. The aim of this study is to evaluate the fibroblastic differentiation process during the implantation of a customized mesh prosthesis compared to commercially available prostheses. Material and methods. A culture of native fibroblasts was used to coat the Esfil and Uniflex hernioprosthesis, which were modified with a polycaprolactone (PCL) solution according to the original technique. The hernioprosthesis were then implanted into a simulated hernia defect in a laboratory rat model. On days 7, 10, 14, 21, and 28, days, laboratory rats were euthanized with an overdose of inhaled anesthetic, and a section of the anterior abdominal wall was sampled for histological examination, followed by hematoxylin+eosin staining for histological examination. The morphology of the tissue was characterized, and the number of fibroblast and fibrocyte cells was estimated. Results. When analyzing the morphological data, we found that in the group where fibroblast culture was applied to the surface of the hernioprosthesis, the number of cells steadily

increased over time. Connective tissue surrounding the prosthesis matured earlier in this group compared to other groups. The number of fibrocytes was higher in groups using the standard Esfil herniaprosthesis, while in groups using Uniflex without modification, there was a better accumulation of fibroblasts at the wound site. Discussion. Our findings suggest the effectiveness of the procedure for modifying the herniaprosthesis with a polycaprolactone substance and then applying a fibroblast culture. Conclusions. The use of polycaprolactone in a serial mesh hernia prosthesis is effective in delivering fibroblasts to the surgical site. When fibroblast cells are applied to the prosthesis and subsequently inserted into the wound site, the proliferation phase of the inflammatory response occurs earlier compared to that of an unmodified prosthetic device.

**Key words:** ventral hernia, fibroblasts, polycaprolactone, mesh prosthesis, hernia model.

Грыжи передней брюшной стенки занимают ведущее место в структуре хирургической патологии. Согласно статистическим данным, встречаемость данной болезни составляет от 3% до 20,9% среди лиц старше 18 лет в общей демографической группе [1]. В особых группах населения с множественными сопутствующими заболеваниями частота выявления может достигать 60% [2]. Согласно актуальным научным гипотезам, эта нозология имеет сложный многоступенчатый патогенез, звеньями которого являются как заболевания, связанные с повышением внутрибрюшного давления, так и системные дисколлагенозные состояния, однако ведущая роль тех или иных причин остается предметом дискуссий [3; 4].

В настоящее время золотым стандартом лечения большинства вентральных грыж считается герниоэндопротезирование с использованием сетчатого имплантата [5; 6]. Однако подобные операции нередко приводят к различным неблагоприятным последствиям, включая: инфицирование операционной зоны, смещение эндопротеза, образование сером в зоне вмешательства, развитие хронического болевого синдрома и прочие. Существует множество причин, влияющих на возникновение этих осложнений, причём не все из них поддаются предварительной диагностике. Традиционные методы лечения не всегда позволяют избежать подобных осложнений [7].

Основные профилактические меры против формирования послеоперационных вентральных грыж закладываются непосредственно во время хирургического вмешательства. Врач способен влиять на последующий ход раневого процесса различными методами, что позволяет ускорить процессы восстановления и своевременно подавить воспалительные реакции в области раны. Особенно перспективной представляется целенаправленная коррекция фаз раневого процесса при установке герниопротезов. Путем воздействия на определенные механизмы регенерации можно значительно ускорить формирование надежной соединительной ткани и сократить длительность воспалительного периода [8; 9].

Поскольку раневой процесс после герниоэндопротезирования развивается согласно общим закономерностям раневого процесса, особое вни-

мание следует уделять моменту перехода первой фазы воспаления во вторую. Данный период характеризуется, прежде всего, накоплением в ране фибробластов, которые вырабатывают коллаген и участвуют в создании внеклеточного матрикса, необходимого для образования грануляционной ткани [10]. Благодаря относительной простоте методов культивирования по сравнению с другими типами клеток, фибробласты представляют собой наиболее удобный клеточный материал для введения в лапаротомную рану [11; 12]. Применение такого подхода позволяет достичь более эффективных результатов при грыжевой пластике по сравнению с обычными методами протезирования, использующими доступные на рынке сетчатые импланты. Одним из путей внесения клеточного материала в рану является его заведомое расположение на имплантируемом материале. На рынке в настоящее время представлено большое количество сетчатых герниопротезов как зарубежного, так и отечественного производства. Однако основной задачей при их производстве являлось, является и будет являться облегчение их массы, улучшение эластических характеристик при увеличении прочности. Важным аспектом при производстве таких протезов является материал плетения, изготавливаемый из соображений асептики – их поверхность обладает минимальным количеством неровностей, что препятствует колонизации клетками и бактериями, что не дает возможности колонизировать их фибробластами. С этой целью закономерно выглядит улучшение серийно выпускающихся сетчатых протезов с целью их модификации клеточной культурой [13; 14].

Целью исследования является оценка структуры фибробластического дифферона при имплантации модифицированного сетчатого протеза в сравнении с серийно выпускающимися.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведение данного эксперимента одобрено региональным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 3 от 17 октября 2022 г.). Серии экспериментов, проведенные на животных, соответствовали прин-

ципам Страсбургской конвенции по защите прав животных (Франция, 1986) и ГОСТу 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказ №1700-ст от 01.08.2015), в соответствии с Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) ETS N123.

Модификация сетчатого протеза выполнялась по методике, предложенной Берещенко В.В. [15] в авторской модификации.

Исследование выполнялось на базе ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», НИИ экспериментальной хирургии, испытательной лаборатории медицинских изделий, лаборатории морфологии и клеточной технологии, лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии.

Сетчатые герниопротезы «Эсфил стандартный» и «Унифлекс стандартный» (ООО «Линтекс», г. Санкт-Петербург, Россия) располагали в стеклянной чашке Петри, после чего на него с помощью лабораторной микропипетки наносили 10% р-р поликапролактона в хлороформе в объеме 20 мкл на 1 см<sup>2</sup>. Затем в чашку Петри вливали 96% раствор этанола с экспозицией в 30 мин. Сетчатый герниопротез отслаивали от стеклянной поверхности самостоятельно или при помощи декантирования. После протезы извлекали из чашки и просушивали ламинарным потоком воздуха в течение 30 мин.

Модификация герниопротезов проводилась в несколько последовательных этапов (таблица 1).

Важное условие всего процесса модификации - строгое соблюдение асептических условий, что обеспечивало сохранение стерильности про-

**Таблица 1. Этапность модификации герниопротеза.  
Table 1. The stage of modification of hernioprosthesis.**

Этап	Что выполняли	Характеристика этапа
1	Обработка низкотемпературной плазмой	1. Частота 5 кГц; 2. Напряженность импульса: 10 кВ; 3. Плотность мощности: 2 Вт/см <sup>2</sup> ; 4. Время экспозиции: 5 минут.
2	Обработка рентгеновским излучением	1. Мощность: 150 кВ; 2. Время экспозиции: 5 минут.
3	Нанесение фибробластов	1. Источник клеток: дермальные аутофибробласты, полученные методом теплого трипсина из кожи лабораторного животного; 2. Культивационная среда: DMEM с добавлением пенициллина и L-глутамата; 3. концентрация клеток: $1,5 \times 10^5$ клеток; 4. период инкубации: 5 дней.

тезов на всех этапах обработки. Оценка эффективности прикрепления фибробластов к поверхности протеза проводилась методом электронной микроскопии [16].

Такая многоэтапная модификация направлена на улучшение биосовместимости и регенеративных свойств герниопротезов, что потенциально может повысить эффективность хирургического лечения вентральных грыж.

После выполнения всех этапов модификации протез имплантировали в переднюю брюшную стенку самок лабораторных крыс линии Вистар, массой от 150 до 200 гр. Все манипуляции проводили в соответствии с «Международными рекомендациями по биомедицинским исследованиям на животных» (ЕЕС, Страсбург, 1985 г.) и Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Выполнялось моделирование

пластики послеоперационной грыжи передней брюшной стенки. Оперативное вмешательство выполнялось под ингаляционным наркозом изофлюраном в дозировке, минимально необходимой для достижения анальгезии. Было сформировано 6 экспериментальных групп и 3 серии эксперимента (Таблица 2). Выведение животных из эксперимента выполнялось на 7, 10, 14, 21 и 28 сутки.

После выведения животных из эксперимента с помощью наркозной камеры с передозировкой ингаляционного анестетика выполнялась аутопсия передней брюшной стенки с изготовлением срезов, окраской их гематоксилином+эозином, выполнением гистологического исследования препаратов. Оценивали количественную характеристику фибробластов и фиброцитов, а также общую гистологическую картину. Статистическая

обработка выполнялась с использованием программы Statistica 13 (производитель Dell Software Company, Round Rock, Texas, United States of America). Для оценки достоверности использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (U-критерий).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении гистологических препаратов 1 серии на 7 сутки эксперимента вокруг нитей герниопротеза обнаружены диффузно расположенные соединительнотканые волокна как в группе  $A_1$  (рис. 1), так и в  $B_1$ , при этом в группе  $B_1$  волокна были упорядоченными с более компактным расположением.

На 10 сутки эксперимента вокруг нитей герниопротеза формируется оформленная соединительная ткань, клеточный элемент преобладает над тканевым в обеих группах.

На 14 сутки в обеих экспериментальных группах герниопротез окружен капсулой, состоящей из тонких упорядоченных коллагеновых волокон. Клеточный компонент в основном представлен собственными клетками соединительной ткани – фиброцитами и фибробластами (рис. 2).

На 21 сутки эксперимента достоверных отличиях с предыдущим сроком не обнаружено.

К окончанию эксперимента – на 28 день капсула вокруг имплантов, состоит из толстых зрелых коллагеновых волокон. Определяются клеточные признаки перестройки соединительной ткани (лимфо-плазмоцитарная инфильтрация (рис. 3)).

В целом, можно отметить тенденцию к снижению количества фибробластов в обеих группах до 21 суток ( $24,5 \rightarrow 14,5 \rightarrow 15,5 \rightarrow 12,0$ ) исследования с их возрастанием к 28 суткам при модификации протеза «Эсфил» ( $16,0$ ). Одновременно с этим, при модификации протеза «Унифлекс» наблюдается устойчивый отрицательный тренд ( $26 \rightarrow 22 \rightarrow 18 \rightarrow 19,5 \rightarrow 13,5$ ). При оценке динамики накопления фиброцитов в первой серии эксперимента отмечается стабильный рост их процентного отношения как в группе «Эсфил» ( $6,8 \rightarrow 12 \rightarrow 16,8 \rightarrow 27 \rightarrow 29$ ), так и в группе

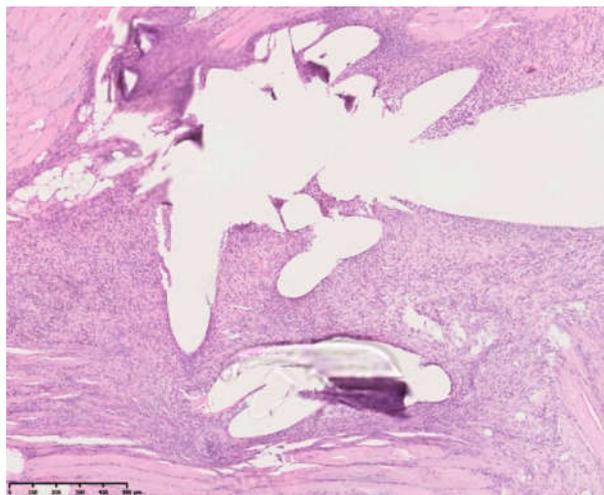


Рис. 1. Микрофотография морфологических изменений тканей на 7 сутки в экспериментальной группе  $A_1$ . Окр. Г-Э, ув.  $\times 100$ .

Fig. 1. Micrograph of morphological tissue changes on day 7 in experimental group  $A_1$ . Ocd. G-E, magnification –100.



Рис. 2. Микрофотография морфологических изменений тканей на 14 сутки в экспериментальной группе  $B_1$ . Окр. Г-Э, ув.  $\times 100$ .

Fig. 2. Micrograph of morphological tissue changes on day 14 in experimental group  $B_1$ . Ocd. G-E, magnification –100.

«Унифлекс» ( $4,5 \rightarrow 21,5 \rightarrow 25,5 \rightarrow 30,5 \rightarrow 47,5$ ) (таблица 2).

Таблица 2. Тип имплантируемого протеза в зависимости от экспериментальной группы.  
Table 2. Type of implantable prosthesis depending on the experimental group.

Серия эксперимента	Эндопротез «Эсфил стандартный» (А)	Эндопротез «Унифлекс стандартный» (В)
1 серия	$A_1$ – немодифицированный протез	$B_1$ – немодифицированный протез
2 серия	$A_2$ – протез с нанесенным на его поверхность раствором поликапролактона	$B_2$ – протез с нанесенным на его поверхность раствором поликапролактона
3 серия	$A_3$ – протез с нанесенным на его поверхность раствором поликапролактона и клеточной культурой фибробластов	$B_3$ – протез с нанесенным на его поверхность раствором поликапролактона и клеточной культурой фибробластов

При изучении препаратов 2 серии эксперимента на 7 сутки нитей герниопротеза достаточно выраженная диффузная моноцитарно-макрофагальная реакция с образованием гигантских клеток. В группе В<sub>1</sub> более выражен коллагеногенез (рис. 4)

На 10 сутки эксперимента вокруг герниопротезов обнаруживается появление капсулы из соединительной ткани, однако воспалительная реакция с преобладанием клеточного компонента остается высокой.

На 14 день вокруг герниопротеза формируется рыхлый соединительнотканый слой. В составе преобладают тонкие коллагеновые волокна и клетки фибробластического дифферона (рис. 5).

К 21 дню капсула становится более компактной с незначительными количеством аморфного вещества.

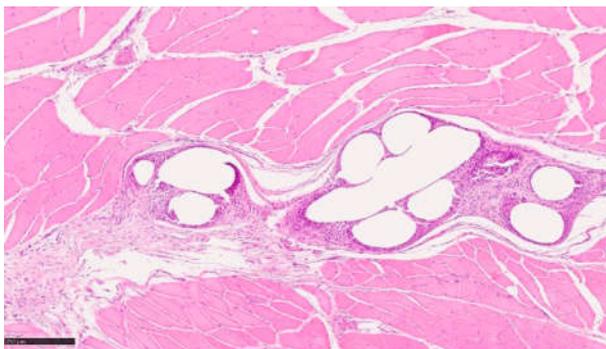
Процесс постепенного созревания наблюдается на 28 сутки эксперимента. Продолжается перестройка структуры соединительной ткани, в ее структуре преобладают тонкие пучки.

Можно заключить, что в группе с модификацией герниопротеза «Эсфил» изменение количества фибробластов имеет отрицательную динамику до 28 суток, когда наблюдается их рост (21,5 → 19,5 → 16,5 → 15 → 20); общая тенденция изменения количества клеток близка к таковой в 1 серии. В группе с герниопротезом «Унифлекс» изменения не носят ярко выраженный характер, но, в отличие от 1 серии, с 21 к 28 суткам отмечается рост количества фибробластов (22 → 20 → 21 → 19,4 → 22,5). Динамика роста количества фиброцитов существенно между группами не отличается: «Эсфил» (2,8 → 6,9 → 13,8 → 19 → 23) и «Унифлекс» (3,5 → 7,8 → 13,5 → 20,6 → 25,5) имеют схожую динамику накопления клеток фиброцитов с увеличением с 10 к 14 суткам (таблица 3).

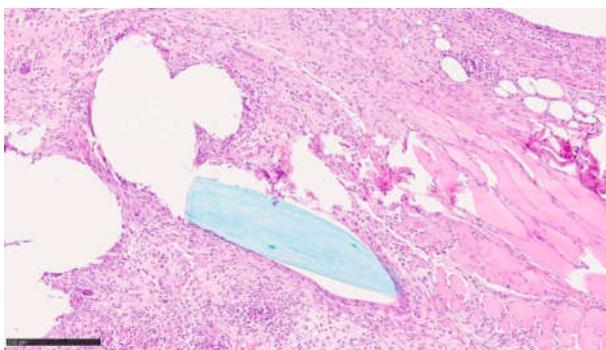
При морфологическом изучении препаратов из 3 серии эксперимента на 7 сутки вокруг волокон герниопротезов можно обнаружить формирование соединительнотканной капсулы, состоящей из тонких, компактно расположенных волокон коллагена. Фибробласты преимущественно однотипными со слабобазофильной цитоплазмой и четко структурированными умеренной плотности ядрами, содержащими мелкие глыбки хроматина (рис. 6).

На 10 сутки эксперимента клеточность капсулы уменьшается в обеих группах.

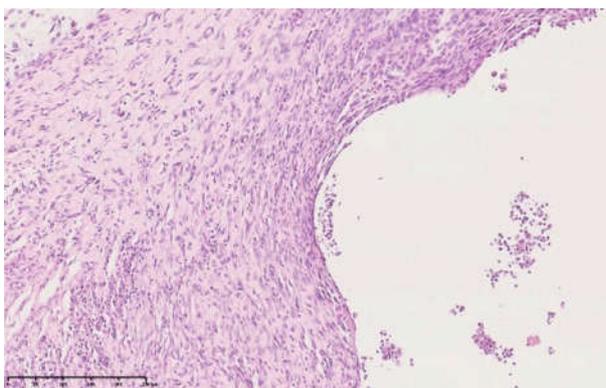
На 14 сутки формируется зрелая грануляционная ткань. При этом в группе А<sub>3</sub> толщина капсулы гораздо больше в сравнении с группой В<sub>3</sub>, в которой также визуализируется большое количество вертикально направленных кровеносных сосудов (рис. 7).



**Рис. 3. Микрофотография морфологических изменений тканей на 28 сутки в экспериментальной группе А<sub>1</sub>. Окр. Г-Э, ув. x 100.**  
**Fig. 3. Micrograph of morphological tissue changes on day 28 in the experimental group A<sub>1</sub>. Ocd. G-E, magnification –100.**



**Рис. 4. Микрофотография морфологических изменений тканей на 7 сутки в экспериментальной группе В<sub>2</sub>. Окр. Г-Э, ув. x100.**  
**Fig. 4. Micrograph of morphological tissue changes on day 7 in the experimental group B<sub>2</sub>. Ocd. G-E, magnification –100.**



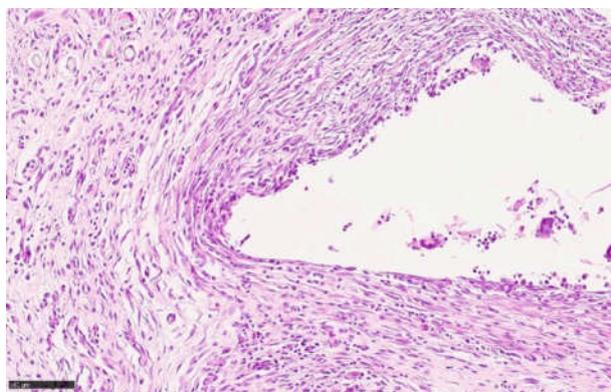
**Рис. 5. Микрофотография морфологических изменений тканей на 14 сутки в экспериментальной группе А<sub>2</sub>. Окр. Г-Э, ув. x200.**  
**Fig. 5. Micrograph of morphological tissue changes on day 14 in the experimental group A<sub>2</sub>. Ocd. G-E, magnification –200.**

На 21 сутки происходит уплотнение и созревание соединительной ткани. Герниопротез про-

**Таблица 3. Характеристика фибробластического дифферона в 1 серии эксперимента (средняя, Q25-Q75).**

**Table 3. Characteristics of fibroblastic differon in the 1 series of the experiment (average, Q25-Q75).**

Сутки	Клетки	Фибробласты	Фиброциты
7	Унифлекс	26,00 (24,00/29,00)	4,50 (3,80/6,100)
	Эсфил	24,50 (23,00/27,40)	6,80 (5,20/8,40)
10	Унифлекс	22,00 (19,00/28,00)	21,50 (17,00/26,30)
	Эсфил	14,50 (13,00/15,00)	12,00 (9,80/16,30)
14	Унифлекс	18,00 (14,00/23,60)	25,50 (21,00/29,60)
	Эсфил	15,50 (13,00/20,00)	16,80 (12,20/19,60)
21	Унифлекс	19,50 (13,00/25,00)	30,50 (26,00/35,00)
	Эсфил	12,00 (9,00/19,00)	27,00 (21,00/27,00)
28	Унифлекс	13,50 (9,00/18,00)	47,5 (42,00/51,00)
	Эсфил	16,00 (12,00/19,00)	29,00 (22,00/34,00)



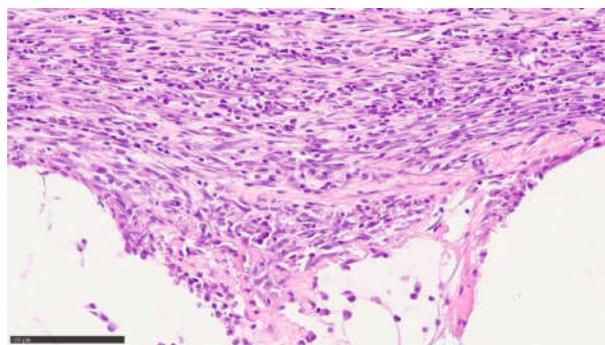
**Рис. 6. Микрофотография морфологических изменений тканей на 7 сутки в экспериментальной группе А3. Окр. Г-Э, ув. x200.**

**Fig. 6. Micrography of morphological tissue changes on day 7 in the experimental group A3. Ocd. G-E, magnification –200.**

растает коллагеновыми волокнами.

На 28 сутки эксперимента вокруг герниопротезов в обеих группах определяется тонкая зрелая соединительнотканная капсула, состоящая из коллагеновых волокон с высокой анизотропией (рис. 8).

При оценке количественного состава фибробластов как в группе «Эсфил» (18,5 → 23,5 → 29,4 → 25 → 29,1), так и в группе «Унифлекс» (19 → 25 → 30 → 27,4 → 30,2) отмечается вы-



**Рис. 7. Микрофотография морфологических изменений тканей на 14 сутки в экспериментальной группе В3. Окр. Г-Э, ув. x200.**

**Fig. 7. Micrography of morphological tissue changes on day 14 in the experimental group B3. Ocd. G-E, magnification –200.**

сокое количество клеток, достигающее максимального уровня уже к 14 суткам. При оценке количества фиброцитов в обеих группах демонстрируется устойчивый тренд на рост среднего количества клеток: «Эсфил» (15,8 → 19,9 → 26 → 27 → 30) и «Унифлекс» (16,5 → 20,8 → 27,5 → 30,6 → 31,6).

Статистические показатели полностью отражены в таблицах 3, 4 и 5, графиках 1, 2, 3 и 4 (рис. 9, 10, 11, 12 соответственно).

**Таблица 4. Характеристика фибробластического дифферона во 2-й серии эксперимента (средняя, Q25-Q75).**

**Table 4. Characteristics of fibroblastic differon in the 2 series of the experiment (average, Q25-Q75).**

Сутки	Клетки	Фибробласты	Фibroциты
7	Унифлекс	22,00 (21,00/25,00)	3,50 (2,40/5,100)
	Эсфил	21,50 (19,00/27,20)	2,80 (5,20/8,40)
10	Унифлекс	20,00 (17,00/23,00)	7,80 (5,00/9,60)
	Эсфил	19,50 (16,00/22,00)	6,90 (4,80/16,30)
14	Унифлекс	21,00 (17,00/25,60)	13,50 (11,00/18,60)
	Эсфил	16,50 (13,00/20,00)	13,80 (12,20/19,60)
21	Унифлекс	19,40 (16,00/25,00)	20,60 (17,30/22,00)
	Эсфил	15,00 (13,00/19,00)	19,00 (17,00/22,00)
28	Унифлекс	22,50 (19,00/26,00)	25,5 (20,00/29,00)
	Эсфил	20,00 (18,00/23,00)	23,00 (21,00/26,70)

**Таблица 5. Характеристика фибробластического дифферона в 3 серии эксперимента (средняя, Q25-Q75).**

**Table 5. Characteristics of fibroblastic differon in 3 experimental series (average, Q25-Q75).**

Сутки	Клетки	Фибробласты	Фibroциты
7	Унифлекс	19,00 (17,00/22,00)	16,50 (10,40/15,200)
	Эсфил	18,50 (15,00/22,50)	15,80 (11,20/11,40)
10	Унифлекс	25,00 (17,00/23,00)	20,80 (5,00/9,60)
	Эсфил	23,50 (20,00/25,00)	19,90 (16,80/22,30)
14	Унифлекс	30,00 (27,00/32,60)	27,50 (24,20/29,60)
	Эсфил	29,40 (27,00/32,00)	26,00 (22,20/29,60)
21	Унифлекс	27,40 (23,00/25,00)	30,60 (27,30/32,00)
	Эсфил	25,00 (23,00/29,00)	27,00 (25,00/32,00)
28	Унифлекс	30,20 (28,00/33,70)	31,60 (27,80/34,00)
	Эсфил	29,10 (26,00/32,90)	30,00 (28,00/32,60)

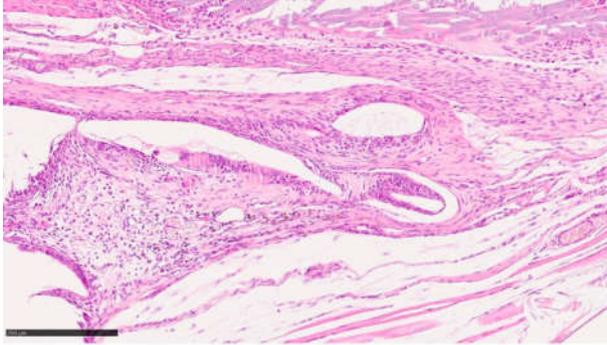


Рис. 8. Микрофотография морфологических изменений тканей на 28 сутки в экспериментальной группе В3. Окр. Г-Э, ув. x200.

Fig. 8. Micrograph of morphological tissue changes on day 28 in the experimental group B3. Ocd. G-E, magnification –200.

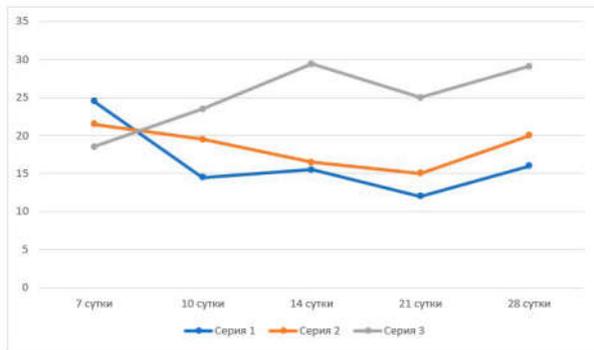


Рис. 9. График №1. Динамика накопления фибробластов в сериях эксперимента при модификации протеза «Эсфил». Примечание:  $p < 0,01$  для 3 серии по сравнению с сериями 1 и 2.

Fig. 9. Graph No.1. Dynamics of fibroblast accumulation in experimental series during modification of the «Esfil» prosthesis. Note:  $p < 0.01$  for Series 3 compared to Series 1 and 2.

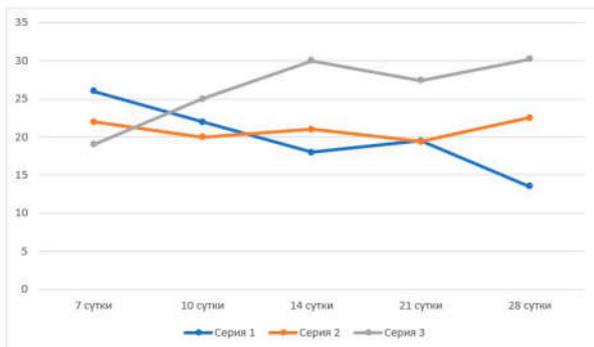


Рис. 10. График №2. Динамика накопления фибробластов в сериях эксперимента при модификации протеза «Унифлекс». Примечание:  $p < 0,01$  для 3 серии по сравнению с сериями 1 и 2.

Fig. 10. Graph No.2. Dynamics of fibroblast accumulation in experimental series during modification of the «Uniflex» prosthesis. Note:  $p < 0.01$  for series 3 compared to series 1 and 2.

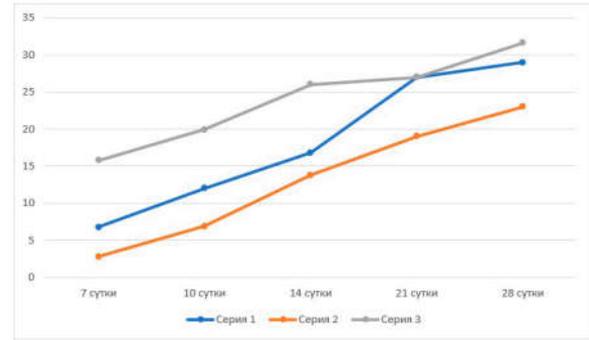


Рис 11. График №3. Динамика накопления фиброцитов в сериях эксперимента при модификации протеза «Эсфил». Примечание:  $p < 0,01$  для 3 серии по сравнению с сериями 1 и 2.

Figure 11. Graph No.3. Dynamics of fibrocyte accumulation in experimental series during modification of the «Esfil» prosthesis. Note:  $p < 0.01$  for series 3 compared to series 1 and 2.

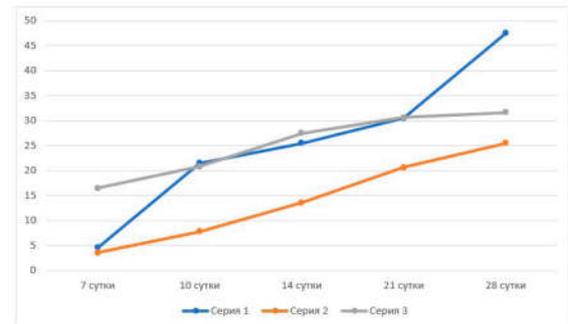


Рис. 12. График №4. Динамика накопления фиброцитов в сериях эксперимента при модификации протеза «Унифлекс». Примечание:  $p < 0,01$  для 3 серии по сравнению с сериями 1 и 2.

Fig. 12. Schedule No.4. Dynamics of fibrocyte accumulation in experimental series during modification of the «Uniflex» prosthesis. Note:  $p < 0.01$  for series 3 compared to series 1 and 2.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о скорейшем созревании соединительной ткани в экспериментальных группах с нанесением фибробластов на герниопротез относительно групп без такой модификации. Одновременно с этим нанесение на герниопротез раствора поликапролактона приводит к худшему прорастанию волокнами коллагена. Положительная динамика увеличения клеточности в экспериментальных группах А и В отмечается уже в интервал 7-10-14 суток, где количество фибробластов росло:  $A_1$  24,5 → 14,5 → 15,5;  $A_2$  21,5 → 19,5 → 16,5;  $A_3$  18,5 → 23,5 → 29,4;  $B_1$  26 → 22 → 18;  $B_2$  22 → 20 → 21;  $B_3$  19 → 25 → 30. Стоит отметить изначально меньшее количество фибробластов в группах  $A_3$  и  $B_3$ . Превалирование

молодых форм фибробластического дифферона уже в ранние сроки имплантации герниопротеза свидетельствует о скорейшем наступлении второй, продуктивной фазы воспаления, что является свидетельством сдвига естественного хода ответной реакции в сторону ускорения формирования соединительной ткани. Количество фиброцитов росло с течением времени в обеих группах, однако в группе В<sub>1</sub> с 21 к 28 суткам отмечается значительный рост, превосходящий другие группы. Отмеченные нами изменения в группах оказались статистически достоверными ( $p < 0,05$  в В<sub>3</sub> по сравнению с группой В<sub>2</sub> и В<sub>1</sub>; А<sub>3</sub> к А<sub>2</sub> и А<sub>1</sub>). Отдельно стоит отметить то, что в течение исследования в группах А<sub>3</sub> и В<sub>3</sub> не отмечено осложнений со стороны раны – раны заживали первичным натяжением на 3-4 сутки, дополнительной экссудации, сером, нагноения ран или области протезирования не наблюдалось; в группах же А<sub>1</sub> и А<sub>2</sub> и В<sub>2</sub> отмечались случаи парапротезного абсцедирования – 1 и 2 и 2 случая соответственно. Животные при этом были исключены из эксперимента, продублированы.

Однако сам носитель клеточного материала требует дальнейшего изучения. В процессе исследования наблюдалась выраженная воспалительная реакция в ответ на использование раствора поликапролактона. В качестве иных материалов для модификации протезов возможно рассмотрение как рассасывающихся полимеров синтетического, так и естественного происхождения (карбоксиметилцеллюлоза, желатин и его производные, и прочее). Тем не менее, потенциал и сфера их применения также является предметом дискуссии по причине их реактогенности [17].

Отдельно стоит отметить работы, в которых отмечаются положительные стороны применения факторов миграции фибробластов в рану. Несмотря на все положительные стороны такого способа, модификация протеза таким путем довольно дорогостоящая за счет высокой стоимости этих веществ [18].

Принимая во внимание изложенное, дальнейшие исследования в области модификации герниопротезов с помощью фибробластов можно признать актуальными.

## ВЫВОДЫ

1. Нанесение поликапролактона на серийный сетчатый герниопротез эффективно для доставки фибробластов в операционную рану.

2. При нанесении фибробластов на герниопротез и последующем внесении их в рану фаза пролиферации воспалительного процесса наступает раньше относительно группы с использованием немодифицированного протеза.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Thankam F. G., Palanikumar G., Fitzgibbons R. J., Agrawal D. K. Molecular mechanisms and potential therapeutic targets in incisional hernia. *Journal of Surgical Research*. 2019;236:134-143. doi:10.1016/j.jss.2018.11.037.
2. Morales-Conde S., Hernández-Granados P., Tallón-Aguilar L., Verdaguer-Tremolosa M., López-Cano M. Ventral hernia repair in high-risk patients and contaminated fields using a single mesh: proportional meta-analysis. *Hernia*. 2022;26(6):1459-1471. doi:10.1007/s10029-022-02668-w.
3. Thankam F. G., Larsen N. K., Varghese A., Bui T. N., Reilly M., Fitzgibbons R. J., Agrawal D. K. Biomarkers and heterogeneous fibroblast phenotype associated with incisional hernia. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2021;476:3353-3363. doi:10.1007/s11010-021-04166-6.
4. Rosen M. J., Krpata D. M., Petro C. C., Carbonell A., Warren J., Poulouse B. K., Costanzo A., Tu C., Blatnik J., Prabhu A. S. Biologic vs synthetic mesh for single-stage repair of contaminated ventral hernias: a randomized clinical trial. *JAMA surgery*. 2022;157(4):293-301. doi:10.1001/jamasurg.2021.6902.
5. Сажин А. В., Лобан К. М., Ивахов Г. Б., Петухов В. А., Глаголев Н. С., Андрияшкин А. В., Ахмедов Р. Р. Современные концепции хирургии вентральных грыж. *Новости хирургии*. 2020;28(6):714-729. doi:10.18484/2305-0047.2020.6.714.
6. See C. W., Kim T., Zhu D. Hernia mesh and hernia repair: a review. *Engineered Regeneration*. 2020;1:19-33. doi:10.1016/j.engreg.2020.05.002.
7. Serrano-Aroca A., Pous-Serrano S. Prosthetic meshes for hernia repair: State of art, classification, biomaterials, antimicrobial approaches, and fabrication methods. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. 2021;109(12):2695-2719. doi:10.1002/jbm.a.37238B.
8. Miroshnichenko S., Timofeeva V., Permyakova E., Ershov S., Kiryukhantsev-Korneev P., Dvořáková E., Shtansky D. V., Zajíčková L., Solovieva A., Manakhov A. Plasma-coated polycaprolactone nanofibers with covalently bonded platelet-rich plasma enhance adhesion and growth of human fibroblasts. *Nanomaterials*. 2019;9(4):637. doi:10.3390/nano9040637.
9. da Cunha M. G. M. M., Arts B., Hympanova L., Rynkevic R., Mackova K., Bosman A. W., Dankers P. Y. W., Deprest J. Functional

supramolecular bioactivated electrospun mesh improves tissue ingrowth in experimental abdominal wall reconstruction in rats. *Acta biomaterialia*. 2020;106:82-91. doi:10.1016/j.actbio.2020.01.041.

10. Saïding Q., Chen Y., Wang J., Pereira C. L., Sarmiento B., Cui W., Chen X. Abdominal wall hernia repair: from prosthetic meshes to smart materials. *Materials Today Bio*. 2023;100691. doi:10.1016/j.mtbio.2023.100691

11. Dydak K., Junka A., Nowacki G., Paleczny J., Szymczyk-Ziółkowska P., Górczyńska A., Aniołek O., Bartoszewicz M. In vitro cytotoxicity, colonisation by fibroblasts and antimicrobial properties of surgical meshes coated with bacterial cellulose. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(9):4835. doi:10.3390/ijms23094835.

12. Davidson S., Coles M., Thomas T., Kollias G., Ludewig B., Turley S., Brenner M., Buckley C. D. Fibroblasts as immune regulators in infection, inflammation and cancer. *Nature Reviews Immunology*. 2021;21(11): 704-717. DOI: 10.1038/s41577-021-00540-z.

13. Koike Y., Yozaki M., Utani A., Murota H. Fibroblast growth factor 2 accelerates the epithelial–mesenchymal transition in keratinocytes during wound healing process. *Scientific reports*. 2020;10(1):18545. doi:10.1038/s41598-020-75584-7.

14. Taibi A., Derbal S., Durand Fontanier S., Christou N., Fredon F., Bouvier S., Fabre A., Rivaille T., Valleix D., Mathonnet M. Implantation of biologic mesh in ventral hernia repair—does it make sense? *Surgical Endoscopy*. 2021;35:702-709. doi:10.1007/s00464-020-07435-5.

15. Берещенко В. В., Лызи́ков А. Н., Нады́ров Э. А., Кондра́чук А. Н. Сравнительная морфологическая характеристика реакции тканей экспериментальных животных на имплантацию модифицированных полипропиленовых сетчатых эндопротезов. *Новости хирургии*. 2021;29(6):645-653. doi:10.18484/2305-0047.2021.6.645.

16. Иванов И. С., Ушанов А. А., Мишина Е. С., Плотников В. А., Бобкова А. Р., Толкачев К. С. Сравнительное изучение методов модернизации герниопротезов как матрицы для культивирования фибробластов. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2021;(3):148-152. doi:10.19163/1994-9480-2023-20-3-148-152.

17. Hansen S. G., Taskin M. B., Chen M., Wogensen L., Vinge Nygaard J., Axelsen S. M. Electrospun nanofiber mesh with fibroblast growth factor and stem cells for pelvic floor repair. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2020;108(1):48-55. doi:10.1002/jbm.b.34364.

18. Fan Z., Zhao X., Li J., Ji R., Shi Y. Cell-based therapies for reinforcing the treatment efficacy of meshes in abdominal wall hernias: A systematic review and meta-analysis. *Asian Journal of Surgery*. 2022;45(9):1667-1677. doi:10.1016/j.asjsur.2021.09.019.

## REFERENCES

1. Thankam F. G., Palanikumar G., Fitzgibbons R. J., Agrawal D. K. Molecular mechanisms and potential therapeutic targets in incisional hernia. *Journal of Surgical Research*. 2019;236:134-143. doi:10.1016/j.jss.2018.11.037.

2. Morales-Conde S., Hernández-Granados P., Tallón-Aguilar L., Verdaguer-Tremolosa M., López-Cano M. Ventral hernia repair in high-risk patients and contaminated fields using a single mesh: proportional meta-analysis. *Hernia*. 2022;26(6):1459-1471. doi:10.1007/s10029-022-02668-w.

3. Thankam F. G., Larsen N. K., Varghese A., Bui T. N., Reilly M., Fitzgibbons R. J., Agrawal D. K. Biomarkers and heterogeneous fibroblast phenotype associated with incisional hernia. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2021;476:3353-3363. doi:10.1007/s11010-021-04166-6.

4. Rosen M. J., Krpata D. M., Petro C. C., Carbonell A., Warren J., Poulouse B. K., Costanzo A., Tu C., Blatnik J., Prabhu A. S. Biologic vs synthetic mesh for single-stage repair of contaminated ventral hernias: a randomized clinical trial. *JAMA surgery*. 2022;157(4):293-301. doi:10.1001/jamasurg.2021.6902.

5. Sazhin A. V., Loban K. M., Ivakhov G. B., Petukhov V. A., Glagolev N. S., Andriyashkin A. V., Akhmedov R. R. Current concepts of ventral hernia surgery. *Surgery News*. 2020;28(6):714-729. (In Russ.). doi:10.18484/2305-0047.2020.6.714.

6. See C. W., Kim T., Zhu D. Hernia mesh and hernia repair: a review. *Engineered Regeneration*. 2020;1:19-33. doi:10.1016/j.engreg.2020.05.002.

7. Serrano-Aroca A., Pous-Serrano S. Prosthetic meshes for hernia repair: State of art, classification, biomaterials, antimicrobial approaches, and fabrication methods. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. 2021;109(12):2695-2719. doi:10.1002/jbm.a.37238B.

8. Miroshnichenko S., Timofeeva V., Permyakova E., Ershov S., Kiryukhantsev-Korneev P., Dvořáková E., Shtansky D. V., Zajíčková L., Solovieva A., Manakhov A. Plasma-coated polycaprolactone nanofibers with covalently bonded platelet-rich plasma enhance adhesion and growth of human fibroblasts. *Nanomaterials*. 2019;9(4):637. doi:10.3390/nano9040637.

9. da Cunha M. G. M. M., Arts B., Hympanova L., Rynkevic R., Mackova K., Bosman

- A. W., Dankers P. Y. W., Deprest J. Functional supramolecular bioactivated electrospun mesh improves tissue ingrowth in experimental abdominal wall reconstruction in rats. *Acta biomaterialia*. 2020;106:82-91. doi:10.1016/j.actbio.2020.01.041.
10. Saïding Q., Chen Y., Wang J., Pereira C. L., Sarmiento B., Cui W., Chen X. Abdominal wall hernia repair: from prosthetic meshes to smart materials. *Materials Today Bio*. 2023;100691. doi:10.1016/j.mtbio.2023.100691
11. Dydak K., Junka A., Nowacki G., Paleczny J., Szymczyk-Ziółkowska P., Górzyńska A., Aniołek O., Bartoszewicz M. In vitro cytotoxicity, colonisation by fibroblasts and antimicrobial properties of surgical meshes coated with bacterial cellulose. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(9):4835. doi:10.3390/ijms23094835.
12. Davidson S., Coles M., Thomas T., Kollias G., Ludewig B., Turley S., Brenner M., Buckley C. D. Fibroblasts as immune regulators in infection, inflammation and cancer. *Nature Reviews Immunology*. 2021;21(11): 704-717. DOI: 10.1038/s41577-021-00540-z.
13. Koike Y., Yozaki M., Utani A., Murota H. Fibroblast growth factor 2 accelerates the epithelial–mesenchymal transition in keratinocytes during wound healing process. *Scientific reports*. 2020;10(1):18545. doi:10.1038/s41598-020-75584-7.
14. Taïbi A., Derbal S., Durand Fontanier S., Christou N., Fredon F., Bouvier S., Fabre A., Rivaille T., Valleix D., Mathonnet M. Implantation of biologic mesh in ventral hernia repair—does it make sense? *Surgical Endoscopy*. 2021;35:702-709. doi:10.1007/s00464-020-07435-5.
15. Bereshchenko V. V., Lyzikov A. N., Nadyrov E. A., Kondrachuk A. N. Comparative morphological features of subcutaneous tissue of experimental animals in response to the implantation with modified polypropylene mesh endoprosthesis. *News of Surgery*. 2021;29(6):645-653 (In Russ.). doi:10.18484/2305-0047.2021.6.645.
16. Ivanov I. S., Ushanov A. A., Mishina E. S., Plotnikov V. A., Bobkova A. R., Tolkachev K. S. Comparative study of methods for the modernization of mesh prostheses as a matrix for the cultivation of fibroblasts. *Bulletin of the Volgograd State Medical University*. 2021;(3):148-152. (In Russ.). doi:10.19163/1994-9480-2023-20-3-148-152.
17. Hansen S. G., Taskin M. B., Chen M., Wogensen L., Vinge Nygaard J., Axelsen S. M. Electrospun nanofiber mesh with fibroblast growth factor and stem cells for pelvic floor repair. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2020;108(1):48-55. doi:10.1002/jbm.b.34364.
18. Fan Z., Zhao X., Li J., Ji R., Shi Y. Cell-based therapies for reinforcing the treatment efficacy of meshes in abdominal wall hernias: A systematic review and meta-analysis. *Asian Journal of Surgery*. 2022;45(9):1667-1677. doi:10.1016/j.asjsur.2021.09.019.