

И.И. Мусин, А.Г. Ящук, А.Р. Молоканова, П.А. Берг
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОМБИНАЦИИ
СЕТЧАТОГО ПОЛИПРОПИЛЕНОВОГО ПРОТЕЗА И МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПРОЛАПСА ГЕНИТАЛИЙ**
*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Уфа*

Послеоперационные осложнения при лечении пролапса гениталий в виде болевого синдрома и эрозий слизистой при применении сетчатых протезов становятся причиной разработки альтернативных материалов при коррекции пролапса гениталий.

Цель исследования: оценка мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) в комбинации с сетчатым протезом *in vivo*.

Материал и методы. 32 крысам Sprague Dawley в эксперименте было нанесено повреждение задней стенки влагалища с последующим применением ММСК в комбинации с сетчатым протезом, а в группе контроля заживление происходило только с применением сетчатого имплантата.

Результаты и обсуждение. В результате эксперимента (на 30-е сутки) в опытной группе крыс после применения ММСК восстановившаяся слизистая влагалища крыс была довольно интенсивно снабжена кровеносными сосудами, а на 7-е сутки рана эпителизовалась и под ней обнаруживалась грануляционная ткань. Применение ММСК привело к полной эпителизации раны и формированию структурно полноценной соединительнотканной пластинки слизистой и подслизистой оболочек.

Заключение. Использование аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в реконструкции тазового дна может значительно улучшить результаты реконструктивных операций.

Ключевые слова: пролапс гениталий, мезенхимальные стволовые клетки, сетчатые протезы, Mesh-ассоциированные осложнения.

I.I. Musin, A.G. Yashchuk, A.R. Molokanova, P.A. Berg
**EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE USE OF A COMBINATION
OF MESH POLYPROPYLENE PROSTHESIS AND MESENCHYMAL STEM CELLS
FOR THE TREATMENT OF GENITAL PROLAPSE**

Postoperative complications in the treatment of genital prolapse in the form of pain syndrome and mucosal erosions when using mesh prostheses cause the development of alternative materials for the correction of genital prolapse.

The aim of the study was to evaluate multipotent mesenchymal stem cells (MMSCs) in combination with a mesh prosthesis *in vivo*.

Material and methods. 32 Sprague Dawley rats in the experiment were damaged by the posterior vaginal wall, followed by the use of MMSC in combination with a mesh prosthesis, and in the control group healing occurred only with the use of a mesh implant.

Results and discussion. As a result of the experiment (on the 30th day) in the experimental group of rats after the use of MMSC, the restored vaginal mucosa of rats was quite intensively supplied with blood vessels, and on the 7th day the wound was epithelized and granulation tissue was found under it. The use of MMSC led to complete epithelization of the wound and the formation of a structurally complete connective tissue plate of the mucous and submucosal membranes.

Conclusion. The use of autologous multipotent mesenchymal stem cells in pelvic floor reconstruction can significantly improve the results of reconstructive operations.

Keywords: genital prolapse, mesenchymal stem cells, mesh prostheses, Mesh-associated complications.

Полипропиленовые сетки как инструмент современной оперативной гинекологии использовались в общей хирургии для лечения грыж передней брюшной стенки [1]. Последние 10 лет дизайн и подход к использованию протеза менялся неоднократно, но при этом состав материала оставался неизменным. Широкое использование имплантатов позволило формировать показания к хирургическому лечению в зависимости от возраста. С появлением различных видов имплантов возникла необходимость в пересмотре теоретического и практического подходов к коррекции пролапса органов малого таза. Осложнения в виде болевого синдрома и эрозий слизистой составили 10-42% [2]. Это привело к отзыву сеток для вагинальной хирургии ведущих брендов во многих странах мира. На сегодняшний день многие исследователи разрабатывают альтернативные материалы полипропиленовой сетке

[3] и биорезорбируемым протезам [4] для коррекции пролапса органов малого таза. В последнее время появилось понимание того, что подходы к тканевой инженерии могут заметно улучшить результаты операций [5].

Цель исследования – оценка использования мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) в комбинации с сетчатым протезом *in vivo*.

Материал и методы

Эксперимент проводился по разрешению этического комитета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, протокол № 10 от 13.11.2017. Экспериментальная модель представлена опытной группой из 32-х крыс Sprague Dawley 10-недельного возраста массой 200 г, которым было произведено механическое повреждение задней стенки влагалища. С целью восстановления целостности задней стенки влагалища использован сетча-

тый полимерный протез с культивированными на ней ММСК, которые были получены путем извлечения их из жировой ткани крыс в количестве 5000 в лаборатории клеточных культур ЦНИЛ БГМУ. В группе контроля у крыс также было произведено повреждение задней стенки влагалища, но репарация тканей происходила с применением только сетчатого протеза. Из опыта животные были выведены через 1 неделю, 2 недели и через месяц с последующим патоморфологическим исследованием стенки влагалища размером 1,5-2 см. Фиксация биоптатов производилась с помощью 10% раствора формалина, далее гистологические срезы были обработаны в парафине, окрашены гематоксилином, эозином и по Ван-Гизону.

Для анализа данных был применен пакет статистических программ Statistica 10.0 с использованием методов непараметрического анализа, в том числе ранговой корреляции с расчетом ранговых критериев по Краскелу–Уоллесу и Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

В зоне механического повреждения влагалища и установки полипропиленовой сетки у животных контрольной группы определялся воспалительный процесс, который формировал в области собственной соединительнотканной пластинки бессосудистую рубцовую ткань.

В опытной группе зависимость просвета сосудов от сроков наблюдения оказалась менее жесткой, несмотря на явное снижение этого параметра, различие между 7-м днем наблюдения (медиана (Me) = 610,6 мм², 25% квартиль (Q25) = 333,7 мм², 75% квартиль (Q75) = 833,5 мм²) и 14-м днем наблюдения (Me = 416,2 мм², Q25 = 239,2 мм², Q75 = 767,9 мм²), оказалось незначимым ($p > 0,36$). На 30-й день эксперимента снижение зависимости просвета сосудов от сроков наблюдения оказалось более выраженным (Me = 266,0 мм², Q25 = 195,9 мм², Q75 = 444,9 мм² при нижней границе вариации 0 мм²). Уровень площади просвета сосудов уже значимо отличался как от 7-дневного ($p < 0,003$), так и от 14-дневного ($p < 0,05$). Данные значения в опытной группе оказались значимо ($p < 0,0001$) выше, чем в контрольной группе. Полученные результаты представлены на рис. 1 и в нижеследующей таблице.

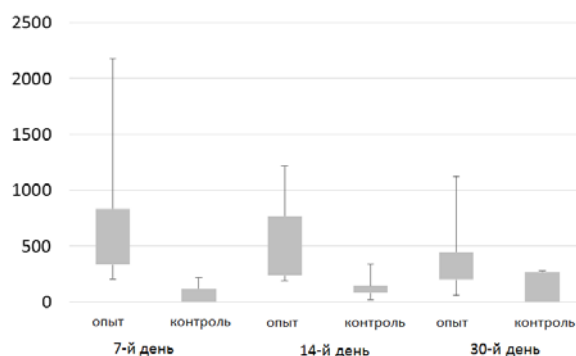


Рис. 1. Изменения площади просвета сосудов в слизистой влагалища крыс контрольной и опытной групп в разные сроки наблюдения (по оси абсцисс – сроки наблюдения (дни после операции), по оси ординат – площадь просвета сосудов в мкм²)

Таблица

Площадь просвета сосудов (в мкм²) в контрольной и опытной группах на 30-й день после операции

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Медиана	184,2	266,0
Квартили 25%-75%	0-115,5	195,9-444,9
Min-Max	0-268,2	0-743,2

Таким образом, к концу эксперимента (на 30-е сутки), по сравнению с бессосудистой зарубцевавшейся соединительнотканной пластинкой слизистой влагалища крыс контрольной группы в опытной группе после применения ММСК восстановившаяся слизистая влагалища крыс была интенсивно снабжена кровеносными сосудами. Через неделю репарация приводила к эпителизации раны с обнаружением грануляционной ткани внутри. Через 2 недели было зарегистрировано уменьшение васкуляризации, часть сосудов подвергалась редукции. Особенность грануляционной ткани состояла в ее уплотнении, созревании, преобладании процессов ремодуляции. В результате прямого воздействия имплантата формируется плотная грубо организованная рубцовая соединительная ткань вокруг фрагментов сетки. Сформировавшаяся соединительнотканная пластинка слизистой оболочки влагалища в зоне имплантации сетки бессосудистая с утонченным эпителиальным слоем. Фрагменты имплантированной сетки окружены плотной соединительной тканью, содержит избыточное количество пролиферирующих фибробластических клеток (рис. 1).

Применение ММСК в комбинации с сетчатым протезом обеспечивало полную качественную регенерацию с формированием функционально и морфологически полноценной соединительнотканной пластинки слизистой оболочки и подслизистого слоя. Использование сетчатого полимерного протеза с культивированными на ней ММСК вызывает качественную эпителизацию раневой поверх-

Таблица

Площадь просвета сосудов (в мкм²) в контрольной и опытной группах на 30-й день после операции

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Медиана	184,2	266,0
Квартили 25%-75%	0-115,5	195,9-444,9
Min-Max	0-268,2	0-743,2

ности. Формируется полноценная соединительнотканная пластинка слизистой влагалища, которая укрепляет ее стенку (рис. 2).

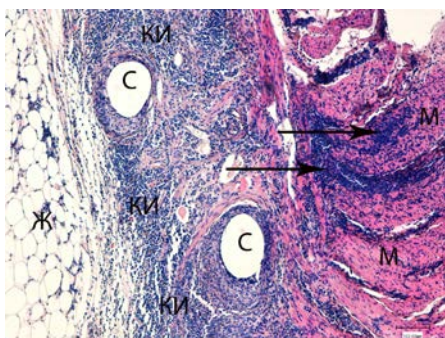


Рис. 1. Структура слизистой оболочки влагалища крысы контрольной группы на 30-е сутки после операции. ↑ – инфильтрация мышечной ткани; КИ – воспалительные клеточные инфильтраты; С – область срезаемых фрагментов сетки; М – мышечная ткань; Ж – жировая клетчатка. Окраска гематоксилином и эозином. Увел.×100

Применение мультипотентных мезенхимальных клеток в комбинации с сетчатым протезом у женщин при тазовом пролапсе является перспективным направлением с целью улучшения исходов реконструктивных операций на тазовом дне.

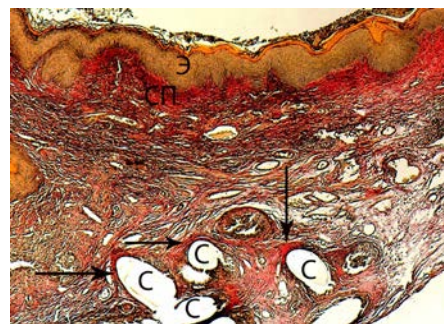


Рис. 2. Структура слизистой оболочки влагалища крысы первой опытной группы на 30-е сутки после операции. Э – эпителий; СА – соединительнотканная пластинка; область срезаемых фрагментов сетки; ↑ – новообразованные коллагеновые волокна. Окраска по Ван-Гизону. Увел.×40

Заключение

Тканевая инженерия с использованием ММСК предлагает новый подход к лечению женщин с пролапсом органов малого таза. Применение ММСК с целью повышения качества оперативного лечения женщин с тазовой десценцией является актуальным и перспективным направлением в хирургии тазового дна. Существует потребность в новых разработках и подходах к реконструктивной хирургии, которые должны быть оценены на доклиническом этапе.

Сведения об авторах статьи:

Мусин Ильнур Ирекович – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: ilnur-musin@yandex.ru.

Яцук Альфия Галимовна – д.м.н., профессор, завкафедрой акушерства и гинекологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел.: 8(347)264-96-50. E-mail: alfiya_galimovna@mail.ru.

Молоканова Анжелла Радиковна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: angella1210@mail.ru.

Берг Полина Андреевна – ординатор кафедры акушерства и гинекологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: kovalenko.polina93@yandex.ru.

ЛИТЕРАТУРА

- Wein, A.J. Re: Implications of the FDA statement on transvaginal placement of mesh: the aftermath / A.J. Wein // J Urol. – 2015. – Vol. 193, № 2. – P. 606-607.
- Long-term outcome of vaginal mesh or native tissue in recurrent prolapse: a randomized controlled trial / A.L. Milani [et al.] // Int Urogynecol J. – 2018. – Vol. 29, № 6. – P. 847-858.
- Characterisation of clinical and newly fabricated meshes for pelvic organ prolapse repair / S.L. Edwards [et al.] // J Mech Behav Biomed Mater. – 2013. – № 23. – P. 53-61.
- Biomimetic implants for pelvic floor repair / M. Vashaghian [et al.] // Neurourol Urodyn. – 2018. – Vol. 37, № 2. – P. 566-580.
- Emmerson, S.J. Endometrial mesenchymal stem cells as a cell based therapy for pelvic organ prolapse / S.J. Emmerson, C.E. Gargett // World J Stem Cells. – 2016. – Vol. 8, № 5. – P. 202-215.

REFERENCES

- Wein A.J. Re: Implications of the FDA statement on transvaginal placement of mesh: the aftermath. J Urol. 2015;193(2):606-607 (in Engl.). doi: 10.1016/j.juro.2014.11.070.
- Milani A.L. [et al.]. Long-term outcome of vaginal mesh or native tissue in recurrent prolapse: a randomized controlled trial. Int Urogynecol J. 2018;29(6):847-858 (in Engl.). doi: 10.1007/s00192-017-3512-3.
- Edwards S.L. [et al.]. Characterisation of clinical and newly fabricated meshes for pelvic organ prolapse repair. J Mech Behav Biomed Mater. 2013;23:53-61 (in Engl.). doi: 10.1016/j.jmbbm.2013.04.002.
- Vashaghian M. [et al.]. Biomimetic implants for pelvic floor repair. Neurourol Urodyn. 2018;37(2):566-580 (in Engl.). doi: 10.1002/nau.23367.
- Emmerson S.J., Gargett C.E. Endometrial mesenchymal stem cells as a cell based therapy for pelvic organ prolapse. World J Stem Cells. 2016;8(5):202-215 (in Engl.). doi: 10.4252/wjsc.v8.i5.202.