

УДК:61.34-007.43+617-089: 611.018.13

© И.С. Иванов, В.А. Лазаренко, С.В. Иванов, Г.Н. Горяинова, Д.В. Тарабрин

## Анализ соотношения коллагена I и III типов в коже и апоневрозе у больных с вентральными грыжами

И.С. ИВАНОВ, В.А. ЛАЗАРЕНКО, С.В. ИВАНОВ, Г.Н. ГОРЯИНОВА, Д.В. ТАРАБРИН

Курский государственный медицинский университет, Курск, Российская Федерация

**Актуальность** Нарушение ремоделирования соединительной ткани после операции у пациентов с грыжами живота, является одной из важнейших проблем современной герниологии. Основной причиной таких нарушений, считается патология соединительной ткани, что неотделимо от изменений коллагенового обмена в зоне образования послеоперационного рубца.

**Цель исследования** Изучить соотношение коллагена I и III типов соединительной ткани в коже и апоневрозе у больных с вентральными грыжами и у пациентов с другой хирургической патологией.

**Материалы и методы** С использованием поляризационной микроскопии проведен сравнительный анализ структур соединительной ткани в коже и апоневрозе у 95 пациентов, позволяющий выявить достоверно более низкое соотношение коллагена I и III типов у пациентов с вентральными грыжами. Все больные разделены на 2 группы: 46 пациентов с вентральными грыжами и 49 с другой хирургической патологией.

**Результаты и их обсуждение** У больных с наличием грыж отмечается достоверное более низкое соотношение типов коллагена ( $p \leq 0,001$ ) как в препарате кожи, так и апоневроза, в сравнении с больными без грыж. Определена сильная прямая корреляционная зависимость между коллагеновым соотношением соединительной ткани кожи и апоневроза, позволяющая прогнозировать возможность образования вентральных грыж при исследовании структуры кожи.

**Выводы** 1) У больных с вентральными грыжами отмечается достоверное ( $p \leq 0,001$ ) более низкое соотношение типов коллагена в коже и апоневрозе. 2) Коллагеновый состав соединительной ткани кожи и апоневроза находятся в сильной прямой корреляционной зависимости ( $r=0,72$ ), что дает возможность судить об изменениях в структуре апоневроза по показателям соотношения коллагенов в коже. 3) Использование метода поляризационной микроскопии для определения соотношения коллагена I и III типов в препаратах кожи и апоневроза имеет высокую информативность в прогнозировании вентральных грыж.

**Ключевые слова** коллаген I и III типов, грыжа, вентральные грыжи, поляризационная микроскопия.

## Analysis of the Ratio of Collagen Types I and III in Skin and Aponeurosis in Patients with Ventral Hernias

I.S. IVANOV, V.A. LAZARENKO, S.V. IVANOV, G.N. GORIANOVA, D.V. TARABRIN

Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation

**Relevance** Disorder of the connective tissue remodeling in patients after surgical treatment of ventral hernias is the great problem of modern herniology. Pathology of the connective tissue is considered as the main cause of this disorder, and is closely connected with the disturbance of collagen metabolism in the zone of post operation scar.

**The purpose of the study** Study the relationship between collagen type I and III of the connective tissue in skin and aponeurosis in patients with hernia disease and with another surgical pathology.

**Materials and methods** Comparative investigation of the skin and aponeurosis connective tissue structure was performed in 95 patients, suffering from ventral hernias, with the help of polarization microscopy. All patients were divided into two groups: 46 patients with ventral hernias and 49 patients with another surgical pathology.

**Results and their discussion** In patients with hernias had significantly lower ratio of TC ( $p \leq 0,001$ ) as in the preparation of the skin, and aponeurosis compared with patients without hernia. It was revealed strong direct correlation dependence between the connective tissue structure of skin and of aponeurosis, which makes the prognosis of ventral hernia development possible with the help of investigation of the skin structure.

**Conclusion** In patients with WG had significantly ( $P \leq 0,001$ ) lower ratio of TC in the skin and aponeurosis. Collagen composition of the connective tissue of the skin and aponeurosis are in a strong direct correlation ( $r=0,72$ ), which makes it possible to judge the changes in the structure of the aponeurosis in terms of the ratio of collagen in the skin. The use of polarization microscopy to determine the proportion of collagen types I and III in the preparations of the skin and aponeurosis is highly informative in the verification of hernia disease.

**Key words** Collagen I and III, hernia, ventral hernias, polarization microscopy.

Лечение вентральных грыж (ВГ) является актуальной проблемой современной абдоминальной хирургии. До 25% всех операций, выполняемых в хирургических отделениях, приходится на абдоминопластики, из числа которых 22% составляют операции по поводу ВГ [2, 3, 5, 6, 13]. ВГ передней брюшной стенки – сравнительно частое заболевание, возникающее в 10-13% всех лапаротомий. Многочисленные исследования показывают, что частота срединных ВГ продолжает увеличиваться, составляя от 57 до 83% от общего количества послеоперационных грыж передней брюшной стенки. Поэтому результаты лечения ВГ, несмотря на широкое внедрение в клиническую практику новых хирургических технологий, в настоящее время нельзя признать удовлетворительными.

Отмечена значительная роль нарушения коллагенового обмена в формировании зрелой соединительной ткани и в дальнейшем развитии ВГ. По мнению ряда авторов, нарушение соотношения типов коллагена в апоневрозе является одной из основных причин развития абдоминальных грыж [2, 3, 11, 12]. Исследование коллагенового обмена возможно с использованием моноклональных антител, а так же при помощи окраски Sirius Red и поляризационной микроскопии.

Цель исследования: изучить соотношение коллагена I и III типов соединительной ткани в коже и апоневрозе у больных с ВГ и у пациентов с другой хирургической патологией.

### Материалы и методы

В работе использованы данные обследования и лечения больных с неосложненными ВГ, находившихся в клинике хирургических болезней №1 Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Курский Государственный медицинский университет» Минздрава России на базе Курской областной клинической больницы с 2010 по 2012 гг. В исследование включены 95 пациентов, которые были разделены на 1 и 2 группы. Мужчин было 30 (31,6%), женщин – 65 (68,4%). В 1 группу вошло 46 пациентов, из них 37 (80,4%) – больные с ВГ, из которых с малыми размерами – 7 (18,9%), средними – 19 (51,4%), большими – 7 (18,9%), гигантскими – 4 (10,8%). Оставшиеся 9 (19,6%) с пупочными грыжами, среди которых 4 пациента были с грыжами средних размеров и 5 с малыми.

2-ю группу составили 49 пациентов, не являющихся грыженосителями, и не имеющих других клинических проявлений слабости соединительнотканного аппарата. Из них мужчин было 19 (38,8%), женщин – 30 (61,2%). Каждая группа разделялась на 1 и 2 серии, в которые включалось исследование структуры соединительной ткани кожи и апоневроза, соответственно.

В план обследования больных было включено гистологическое исследование препаратов кожи и апоневроза, полученных интраоперационно, направленное на изучение качественного состава коллагеновых

волокон соединительной ткани. У больных, которым лапаротомия не выполнялась, осуществляли забор для исследования только кожи. Скальпелем иссекали один кожный фрагмент размерами 4,0×4,0 мм, глубиной на всю толщину кожи (без подкожной клетчатки). Биопсию апоневроза выполняли иссечением фрагмента размерами 4,0×4,0 мм. Полученные препараты помещали в приготовленный заранее стеклянный контейнер с 10% раствором формалина, полностью покрывающим препарат, и закрывали герметичной резиновой пробкой. После 24 часовой экспозиции в растворе формалина, биоптат заключали в парафиновый блок по схеме Меркулова. Полученный препарат нарезали на микротоме (сечение 5  $\mu$ m), фиксировали на предметном стекле и окрашивали красителем Sirius Red (Сириус – красный). После этого, препарат исследовали в обычном и поляризованном свете с использованием поляризационного микроскопа Altami Polar 2, при увеличении  $\times 100$ ,  $\times 250$  и  $\times 400$ ,  $\times 630$ . Фотосъемка микропрепаратов осуществлялась с использованием цифровой окулярной камеры Altami 3 Mpx, выполнялась съемка 10 «полей зрения» при различном увеличении.

Оценка соотношения типов коллагена (ТК) основывалась на отличиях в цветовой гамме, характерной для каждого типа и переходных форм: I тип коллагена – красный, III тип – зеленый. Определение соотношения коллагена I и III типов осуществлялось с использованием программного комплекса Altami Studio 3.0 и ImageJ 1,47a, на основании изучения цветовой гистограммы выбранного участка в каждом «поле зрения». Выделение цветовых диапазонов проводилось на основе гистограммы каждого из цветов. Абсолютные значения красного и зеленого цветов спектра, получаемые посредством визуально-программных комплексов для каждого поля зрения, переводились в относительные с учетом стандартного отклонения. В последующем рассчитывалась величина соотношения ТК. Для удобного архивирования, документирования и дальнейшего статистического анализа, результаты передавались в электронные таблицы. Обработку результатов исследования проводили с помощью встроенных функций ЭВМ приложения Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0. Вычислялись средние величины количественных показателей, стандартное отклонение, коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Существенность различий средних величин оценивали по коэффициенту Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

При исследовании гистологических препаратов кожи у больных I группы было установлено, что среднее содержание коллагена I и III типов составляет  $51,48 \pm 1,83\%$  и  $48,52 \pm 1,83\%$ , соответственно. Соотношение коллагена I и III типов в коже у больных I группы составляло  $1,06 \pm 0,1$ , при поляризационной микроскопии отмечается интенсивное свечение зеленой части спектра, характерного для III типа коллагена.

Таблица 1

**Характеристика коллагена I и III типов в коже и апоневрозе у больных исследуемых групп**

| Группа           | Серия                      | Коллаген I типа | Коллаген III типа | Соотношение I и III типов |
|------------------|----------------------------|-----------------|-------------------|---------------------------|
| 1 группа (N= 46) | Серия 1 – Кожа (N=95)      | 51,48±1,83*     | 48,52±1,83*       | 1,06±0,1**                |
|                  | Серия 2 – Апоневроз (N=73) | 52,35±2,97*     | 47,65±2,97*       | 1,11±0,15**               |
| 2 группа (N= 49) | Серия 1 – Кожа (N=95)      | 69,07±2,66*     | 30,93±2,66*       | 2,26±0,29**               |
|                  | Серия 2 – Апоневроз (N=73) | 69,11±2,68*     | 30,89±2,68*       | 2,27±0,3**                |

Примечание: \* – где  $p \leq 0,001$ , сравнение показателей между группами больных; \*\* – коэффициент Спирмена  $r = 0,72$ , сравнение показателей между сериями.

Исследование гистологических препаратов апоневроза пациентов 1 группы выявило, что содержание коллагена I типа – 52,35±2,97%, а III типа – 47,65±2,97%. Соотношение коллагена I и III типов в апоневрозе у больных с грыжами составляет 1,11±0,15.

Исследование гистологического препарата кожи у больных 2 группы выявило содержание коллагена I и III типов на уровне 69,07±2,66, и 30,93±2,66%, соответственно. Соотношение ТК в коже у пациентов 2 группы составляло 2,26±0,29, что значительно больше по сравнению с показателями пациентов 1 группы.

Содержание коллагена I типа в апоневрозе у больных 2 группы составило 69,11±2,68%, а III типа – 30,89±2,68%. Соотношение I типа к III составило 2,27±0,3, что значительно больше по сравнению с показателями пациентов 1 группы (табл. 1). Таким образом, у больных с наличием грыж отмечается достоверное более низкое соотношение ТК как в препарате кожи, так и апоневроза в сравнении с больными без грыж.

Сравнительный анализ полученных результатов 1 и 2 серий в группах показал отсутствие достоверных отличий ( $p \leq 0,001$ ) и сильную прямую корреляционную зависимость ( $r = 0,72$ ). Это дает возможность судить об изменениях в структуре апоневроза по показателям соотношения коллагенов в коже.

У больных с ВГ малых размеров содержание коллагена в коже I типа составляло 51,46±1,34%, III

типа – 48,53±1,34%. Коллаген I и III типов в апоневрозе у больных с грыжами средних размеров составил 51,4±2,32 и 48,6±2,32%, соответственно. При исследовании препаратов кожи у пациентов с обширными ВГ содержание коллагена I типа составило 50,7±0,8%, а III типа – 49,3±0,83%, у пациентов с гигантскими ВГ среднее содержание коллагена I и III типов равно 50,4±0,82 и 49,6±0,82%, соответственно. При исследовании структуры соединительной ткани у пациентов с различными размерами грыж достоверных отличий не выявлено ( $p \geq 0,005$ ).

**Выводы**

1. У больных с ВГ отмечается достоверное более низкое соотношение ТК в коже и апоневрозе по сравнению с пациентами без ВГ.

2. Коллагеновый состав соединительной ткани кожи и апоневроза находится в сильной прямой корреляционной зависимости ( $r = 0,72$ ), что дает возможность судить об изменениях в апоневрозе по показателям соотношения коллагенов в коже.

3. Использование метода поляризационной микроскопии для определения соотношения коллагена I и III типов в препаратах кожи и апоневроза имеет высокую информативность в прогнозировании риска образования вентральных грыж.

**Список литературы**

1. Борисов А.Е., Малкова С.К., Тоидзе В.В. Применение полипропиленовой сетки при больших и гигантских грыжах передней брюшной стенки *Вестн. хирургии.* – 2002; 6: 76-78.
2. Велигоцкий Н.Н. Комарчук В.В., Комарчук Е.В., Касумба К. Хирургическое лечение грыж на фоне дисплазии соединительной ткани *Украинский Хирургический Журнал*, 2011; 3(12): 236-239
3. Вольный С.В. Клинико-морфологические особенности паховых грыж в свете нарушений коллагенового обмена, Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2010; 20
4. Горелов А.С. Обоснование и оценка эффективности применения сетчатых имплантатов из поливинилиденфторида при герниопластике послеоперационных вентральных грыж (экспериментально-клиническое исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2008; 23.
5. Дубова Е.А. Морфологическая характеристика тканевой реакции при имплантации сетчатых эндопротезов: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Москва, 2008; 23.
6. Зотов В.А. В.А. Зотов, Штофин С.Г., Шестаков В.В., Овчинников В.В. Хирургия грыж брюшной стенки с пластикой "без натяжения" *Вестн. герниологии.* М. 2006; 2: 81-86.
7. Кактурский Л.В. Поляризационная микроскопия Микроскопическая техника. М Медицина, 1996; 116.
8. Пушкин С.Ю. Белоконев В.И. Результаты лечения больных срединной вентральной грыжей с применением синтетических эндопротезов *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* 2010; 6: 43-45.

9. Тимошин А.Д., Юрасов А.В., Шестаков А.Л. Концепция хирургического лечения послеоперационных грыж передней брюшной стенки. *Герниология*. 2004; 1: 5–4.
10. Шнехт Д.Ю. Клинико-морфологическая характеристика послеоперационных ventralных грыж передней брюшной стенки в выборе оптимального способа пластики. Дис. ... канд. мед. наук. Астрахань, 2004; 85.
11. Agrawal A., Avill R. Mesh migration following repair of inguinal hernia: a case report and review of literature. *Hernia*. 2005; 29: 1-4.
12. Bernd Klosterhalfen; Karsten Junge; Uwe Klinge The light-weight and large porous mesh concept for hernia repair. *Expert review of medical devices* 2005; 2(1): 103-17.
13. Godek M.L., Duchsherer N.L., Mc Elwee Q., Grainger D.W. Morphology and growth of murine cell lines on model biomaterials *Biomed Sci Instrum*. 2004; 40: 7-12.

Поступила 19.02.2013 г.

## References

1. Borisov, A.E. Malkova S.K., Toidze V.V. Application of polypropylene mesh for large and giant hernias of the abdominal wall. *Vestnik khirurgii*, 2002; 6: 76-78. - (In Russian)
2. Veligotskii N.N. Komarchuk V.V, Komarchuk E.V., Kasumba K. Surgical treatment of hernias against the background of the connective tissue dysplasia. *Ukrainskii Khirurgicheskii Zhurnal*, 2011; 3(12): 236-239 - (In Russian)
3. Vol'nyi S.V. *Kliniko-morfologicheskie osobennosti pakhovykh gryzh v svete narushenii kollagenovogo obmena*. Avtoref. dis. kand. med. nauk [Clinical and morphological peculiarities of the inguinal hernias in the light of the violations of collagen exchange. Synopsis cand. med. sci. diss.]. Moscow, 2010; 20 p. - (In Russian)
4. Gorelov A.S. *Obosnovanie i otsenka effektivnosti primeneniia setchatykh implantatov iz polivinilidenftorida pri gernioplastike posleoperatsionnykh ventral'nykh gryzh (eksperimental'no-klinicheskoe issledovanie)*. Avtoref. diss. kand. med. nauk [Study and assessment of efficiency of application of mesh implants of PVDF with hernioplastic postoperative ventral hernias (experimental and clinical research). Synopsis cand. med. sci. diss.]. Saint-Petersburg, 2008; 23 p. - (In Russian)
5. Dubova E.A. *Morfologicheskaiia kharakteristika tkanevoi reaktivnoi reaktsii pri implantatsii setchatykh endoprotezov*. Avtoref. diss. kand. med. nauk [Morphological characteristics of tissue reaction implantation mesh implants. Synopsis cand. med. sci. diss.]. Moscow, 2008; 23 p. - (In Russian)
6. Zotov V.A., Shtofin S.G., Shestakov V.V., Ovchinnikov V.V. Surgery hernias of the abdominal wall with plastic "without tension". *Vestnik gerniologii*, 2006; 2: 81-86. - (In Russian)
7. Kakturskii L.V. *Polarizatsionnaia mikroskopiia. Mikroskopicheskaiia tekhnika* [Polarizing microscopy. Microscopic techniques]. Moscow, Medicina Publ., 1996; 116 p. - (In Russian)
8. Pushkin S.Iu. Belokonev V.I. Results of treatment of patients median ventral hernia with application of synthetic implants. *Khirurgiia. Zhurnal im. N.I. Pirogova*, 2010; 6: 43-45. - (In Russian)
9. Timoshin A.D. Iurasov A.V., Shestakov A.L. Surgical treatment of postoperative hernia of the abdominal wall. *Gerniologiia*, 2004; 1: 5–4. - (In Russian)
10. Shpekht D.Iu. *Kliniko-morfologicheskaiia kharakteristika posleoperatsionnykh ventral'nykh gryzh perednei briushnoi stenki v vybore optimal'nogo sposoba plastiki*. Diss. kand. med. nauk [Clinical and morphological characteristics of postoperative ventral hernias of the anterior abdominal wall in the choice of optimal method of plasty. Synopsis cand. med. sci. diss.]. Astrakhan, 2004. 85 p. - (In Russian)
11. Agrawal A., Avill R. Mesh migration following repair of inguinal hernia: a case report and review of literature. *Hernia*, 2005; 29: 1-4.
12. Bernd Klosterhalfen; Karsten Junge; Uwe Klinge The lightweight and large porous mesh concept for hernia repair. *Expert review of medical devices*, 2005; 2(1): 103-17.
13. Godek M.L., Duchsherer N.L., Mc Elwee Q., Grainger D.W. Morphology and growth of murine cell lines on model biomaterials. *Biomed. Sci. Instrum*, 2004; 40: 7-12.

Received 19.02.2013

## Информация об авторах

1. Иванов Илья Сергеевич – к.м.н., доцент кафедры хирургических болезней № 1 Курского государственного медицинского университета
2. Лазаренко Виктор Анатольевич – д.м.н., профессор, ректор, зав. кафедрой хирургических болезней ФПО Курского государственного медицинского университета
3. Иванов Сергей Викторович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой хирургических болезней № 1 Курского государственного медицинского университета
4. Горяинова Галина Николаевна – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии Курского государственного медицинского университета
5. Тарабрин Денис Владимирович – клинический ординатор кафедры хирургических болезней № 1 Курского государственного медицинского университета

## Information about the Authors

1. Ivanov I. – PhD, associate professor, department of surgical diseases № 1 of the Kursk State Medical University
2. Lazarenko V. – MD, professor, rector of the Kursk State Medical University
3. Ivanov S. – MD, professor, head of surgical diseases № 1 of the Kursk State Medical University
4. Goriainova G. – PhD, associate professor, department of Pathological Anatomy of the Kursk State Medical University
5. Tarabrin D. – clinical intern, department of surgical diseases № 1 of the Kursk State Medical University