

УДК 611.018.2:[611.018.28:617-089.844]

С. Н. РЯБЦЕВА<sup>1</sup>, М. А. КОРНЕЕВА<sup>1</sup>, А. О. ЧЕБОТАРЬ<sup>1</sup>, И. А. СЕМЁНИК<sup>1</sup>,  
А. Ю. ШАЛАБОВА<sup>1</sup>, Д. И. ГОЛОВАЧ<sup>2</sup>, В. М. КУНЦ<sup>2</sup>

## КО-ЭКСПРЕССИЯ КОЛЛАГЕНА 1 И 3 ТИПОВ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ГРЫЖЕВОГО МЕШКА И КОЖИ В ОБЛАСТИ ГРЫЖЕВОГО ВЫПЯЧИВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ РАЗНОГО ПОЛА

<sup>1</sup> Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Учреждение здравоохранения «б-я городская клиническая больница», г. Минск, Республика Беларусь

В ходе анализа характера экспрессии маркеров коллагена 1 и 3 типов в дерме кожи и фиброзной ткани грыжевого мешка пациентов с пупочной и паховой грыжей выявлены различия коллагенообразования среди мужчин и женщин, что указывает на необходимость коррекции послеоперационной реабилитации пациентов разного пола с данным заболеванием.

*Ключевые слова:* грыжа передней брюшной стенки, коллаген 1 типа, коллаген 3 типа, половые различия.

**Введение.** Значительный рост плановых и экстренных оперативных вмешательств на органах брюшной полости привели к увеличению числа пациентов с послеоперационными вентральными грыжами. Количество пациентов с послеоперационными вентральными грыжами увеличилось в 9 раз за последние 25 лет во всем мире. В настоящее время насчитывается более 200 способов и различных вариантов пластики грыжевых ворот передней брюшной стенки, которые выполняются в различных ведущих хирургических центрах во всем мире [1–2]. Однако несмотря на большое количество разработанных способов герниопластики, после аутопластики рецидивирование грыж наблюдается у 4,5–6 %, а после аллопластики – у 19,5 % пациентов. В то время как при наличии больших и гигантских послеоперационных вентральных грыжах частота рецидивов достигает 55 % [1–3]. На современном этапе в поиске решения проблемы рецидивирования вентральных грыж большое значение уделяется состоянию соединительной ткани и характеру коллагенообразования в процессах заживления поврежденных тканей и предоперационному состоянию тканей [4]. Было отмечено, что изменение соотношения коллагенов 1 и 3 типа влияет на регенерацию кожи и изменяет прочность соединительной ткани. Так, R.M. Blotta et al. считают, что выявленное снижение коллагенов 1 и 3 типа в соединительной ткани средней линии передней брюшной стенки является причиной развития диастаза прямых мышц живота у женщин [5]. F. Zhao et al. установили увеличение экспрессии коллагена 3 типа без изменения уровня экспрессии коллагена 1 типа в соединительной ткани сформированных послеоперационных грыж у пациентов после пластики колостомы [6]. Изменения соотношения коллагенов 1 и 3 типа также были отмечены после пластики грыжевых ворот с применением аллопротеза [7]. Проведенные исследования указывают на изменение коллагенообразования в соединительной ткани пациентов при формировании послеоперационных грыж. Однако нет данных о половых различиях коллагенообразования при формировании грыжевого выпячивания. Следовательно, изучение соотношения коллагенов 1 и 3 типа в соединительной ткани грыжевого мешка и кожи грыжевого выпячивания до операции у пациентов разного пола позволят оценить характер половых различий в коллагенообразовании соединительной ткани пациентов при формировании грыжевого выпячивания передней брюшной стенки.

**Материалы и методы исследования.** В исследование были включены 32 пациента, прооперированных в стационарах города Минска по поводу паховой или пупочной грыжи.

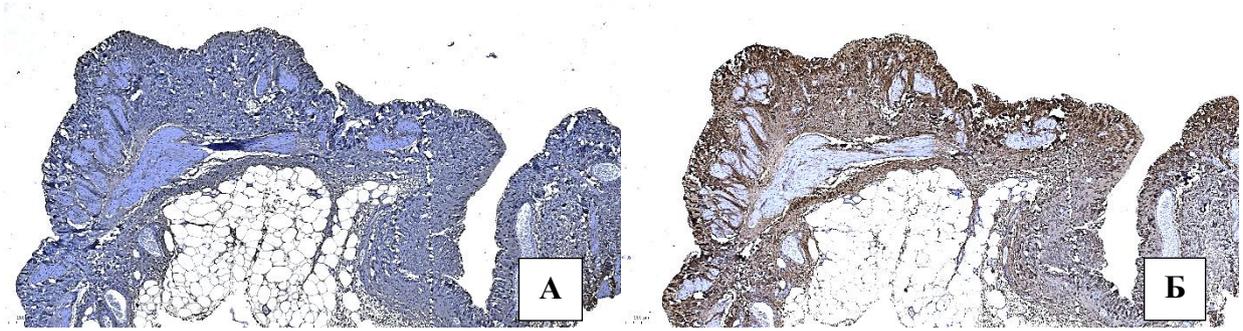
Для гистологического исследования удаленные мягкие ткани передней брюшной стенки (кожа, подкожно-жировая клетчатка, грыжевой мешок) фиксировали в 10 %-ом растворе нейтрального формалина. Далее выполнена вырезка материала, затем автоматическая проводка в гистологическом вакуумном процессоре карусельного типа KD-NS6B (KEDEE, Китай) с последующим заключением фрагментов тканей в парафиновые блоки. С помощью ротационного микротомы CUT56 (Slee Medical, Германия) готовили серийные срезы толщиной 4–5 мкм, проведено окрашивание гематоксилином и эозином по стандартной методике. Для проведения иммуногистохимического анализа срезы депарафинировали и регидратировали в спиртах нисходящей концентрации и ксилолах. Эндогенную пероксидазную активность блокировали с помощью Peroxide Block (3 % перекись водорода) в течение 10 мин, затем проводили демаскировку антигенов в цитратном буферном растворе pH = 6,0 (ab973, «Abcam», США) на водяной бане при 96 °С в течение 20 мин. В качестве первичных антител использовали: антитело к коллагену 1A2 типа («Elabscience», Китай, кат. № E-AB-10155, в рабочем разведении 1 : 400) и коллагену 3A1 типа («Elabscience», Китай, кат. № E-AB-22071, в рабочем разведении 1 : 400). Инкубацию с первичными антителами проводили в течение 30 минут во влажной камере в термостате при 32 °С. Для визуализации иммуногистохимической реакции нами была выбрана система детекции с использованием набора Mouse/Rabbit Uno Vue HRP/DAB Detection system (UMR1000PD, «Diagnostic BioSystems», США). Клеточные ядра докрашивали гематоксилином Майера в течение 13 минут. Препараты заключали в монтирующую среду Glasseal («Лабико», РФ). Микропрепараты были оцифрованы с помощью гистологического сканера MoticEasyScan One (Китай) на увеличении  $\times 20,0$ . Оценка экспрессии иммуногистохимических маркеров к коллагену 1 и 3 типов проводилась с помощью программного обеспечения анализа изображений Aperio ImageScope [v12.4.6.5003] и ее протокола «Positive Pixel Count», анализировалась позитивность выраженной экспрессии маркеров на увеличении  $\times 20,0$  в 10-ти не перекрываемых полях зрения.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием пакета Statistica 10 (Statsoft Inc., США). Полученные морфометрические данные представлены в виде медианы и квартильных отклонений (Me (25%Q;75%Q)). Сравнение групп приводили с использование U-критерия теста Манна-Уитни (для двух независимых групп) и T-критерий Вилкоксона (для двух зависимых групп). Вывод о статистической достоверности различий в группах делали при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В исследование были включены как мужчины ( $n = 25$ ), так и женщины ( $n = 7$ ). Возраст пациентов варьировал от 24 до 78 лет, медиана возраста всех пациентов составила – 63,5 (56,0; 68,0) лет, мужчин – 63,0 (51,0; 68,0) года, женщин – 66,0 (62,0; 76,0) лет. У 13 (40,6 %) пациентов выполнена герниопластика по поводу пупочной грыжи, в 19 (59,4 %) – по поводу паховой грыжи. Среди женщин герниопластика пупочной грыжи с иссечением кожи, подкожно-жировой клетчатки и грыжевого мешка выполнена в 6 (85,7 %) случаях, паховой грыжи – у одной (14,3 %) пациентки. Среди мужчин пластика грыжевых ворот при развитии пупочной грыжи выполнена в 7 (28,0 %) случаях, паховой грыжи – у 18 (72,0 %) пациентов.

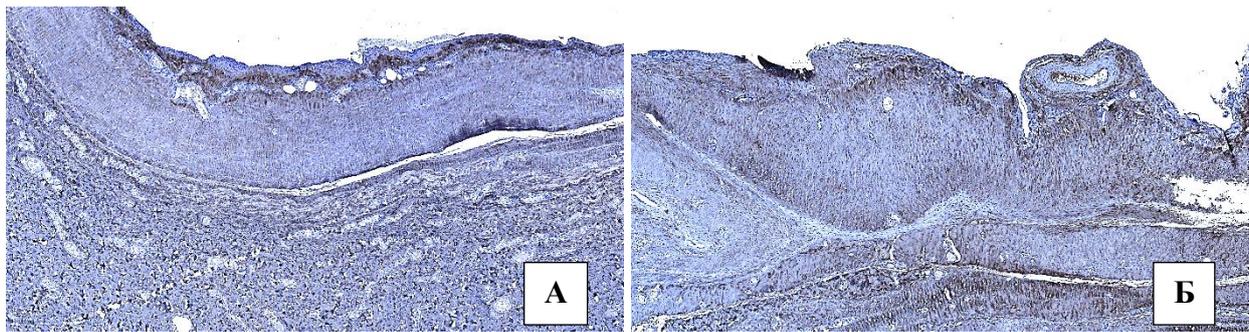
С учетом гистологической особенности соединительной ткани мужчин и женщин группы исследования были разделены по половому различию для дальнейшего изучения структуры соединительной ткани грыжевого мешка.

После герниопластики паховой грыжи операционный материал был представлен только тканью грыжевого мешка. Среди мужчин ( $n = 18$ ) медиана позитивности маркера коллагена 1 типа в фиброзной ткани грыжевого мешка составила 11,5 (7,0; 15,0) %, коллагена 3 типа – 50,0 (44,0; 63,0) %. Соотношение экспрессии маркера коллагена 1 типа к маркеру коллагена 3 типа было равно 1:4,2. Позитивность коллагена 1 типа достоверно была ниже экспрессии маркера коллагена 3 типа ( $p < 0,0001$ , рисунок 1).



**Рисунок 1.** Характер экспрессии маркера коллагена 1 типа (А) и коллагена 3 типа (Б) в ткани грыжевого мешка пациентов мужского пола с паховой грыжей, иммуногистохимия, увеличение  $\times 5,0$ , шкала – 200 мкм

В анализируемой выборке только одна женщина была прооперирована по поводу паховой грыжи. В фиброзной ткани грыжевого мешка медиана позитивности маркера коллагена 1 типа составила 8,0 (6,0; 14,0) %, коллагена 3 типа – 9,0 (5,0; 30,0) %. Соотношение экспрессии маркера коллагена 1 типа к маркеру коллагена 3 типа было равно 1 : 1,13, без достоверных различий позитивности экспрессии оцениваемых белков ( $p = 0,5205$ , рисунок 2).

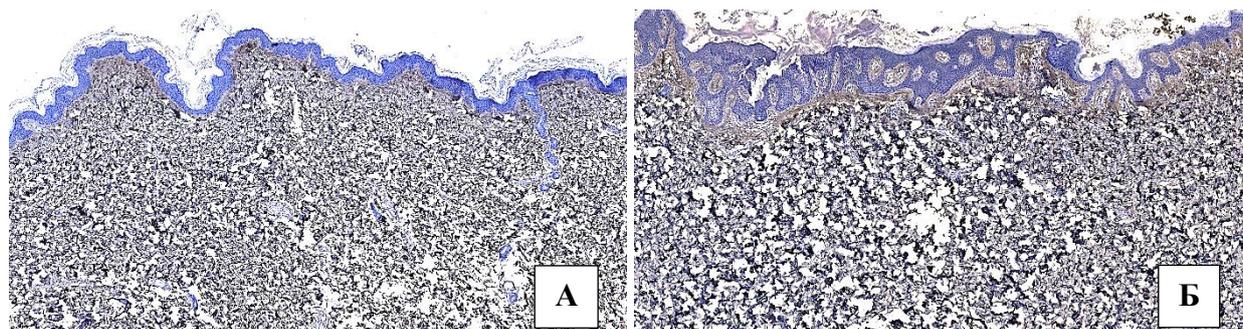


**Рисунок 2.** Характер экспрессии маркера коллагена 1 типа (А) и коллагена 3 типа (Б) в ткани грыжевого мешка пациента женского пола с паховой грыжей, иммуногистохимия, увеличение  $\times 5,0$ , шкала – 200 мкм

Таким образом, в ходе анализа соотношения экспрессии коллагенов 1 и 3 типа в фиброзной ткани грыжевого мешка паховой грыжи выявлены достоверные различия по половому признаку: развитие паховой грыжи у мужчин сопровождается нарастанием преимущественно синтеза коллагена 3 типа. В то время как для женщин более характерно увеличение синтеза обоих типов анализируемых коллагенов в соотношении 1 : 1,13. Данные изменения у обоих полов указывают на дисбаланс выработки коллагенов 1 и 3 типа в фиброзной ткани грыжевого мешка при формировании паховой грыжи.

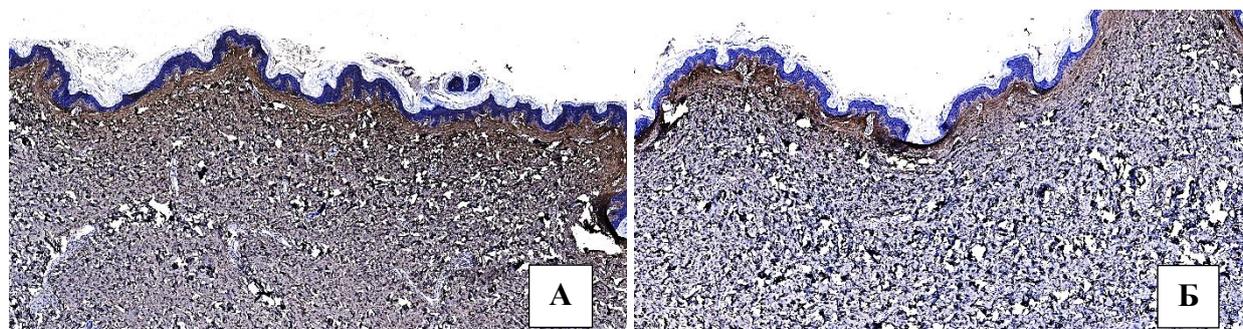
После оперативной коррекции пупочной грыжи для исследования был доставлен комплекс мягких тканей передней брюшной стенки, представленный кожей, подкожно-жировой клетчаткой и грыжевым мешком. Анализ экспрессии маркеров коллагена 1 и 3 типа выполнен в участках кожи по краю резекции (неизменная часть), над грыжевым выпячиванием (измененная часть) и в фиброзной ткани грыжевого мешка.

Герниопластика грыжевых ворот пупочной грыжи выполнена у 7 пациентов мужского пола. В дерме кожи по краю резекции представленного комплекса мягких тканей передней брюшной стенки мужчин медиана выраженной экспрессии маркера коллагена 1 типа составила 2,0 (1,0; 2,0) %, коллагена 3 типа – 5,0 (5,0; 6,0) %. Соотношение выраженной экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа было равно 1 : 2,5 ( $p = 0,0022$ , рисунок 3).



**Рисунок 3.** Характер экспрессии маркера коллагена 1 типа (А) и коллагена 3 типа (Б) в дерме кожи по краю резекции пупочной грыжи пациента мужского пола, иммуногистохимия, увеличение  $\times 5,0$ , шкала – 200 мкм

В дерме кожи над грыжевым выпячиванием медиана выраженной экспрессии маркера коллагена 1 типа составила 17,5 (9,0; 28,0) %, коллагена 3 типа – 8,0 (3,0; 10,0) %. Соотношение выраженной экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа было равно 2,2 : 1,0 ( $p = 0,0091$ , рисунок 4).



**Рисунок 4.** Характер экспрессии маркера коллагена 1 типа (А) и коллагена 3 типа (Б) в дерме кожи над грыжевым выпячиванием пупочной грыжи пациента мужского пола, иммуногистохимия, увеличение  $\times 5,0$ , шкала – 200 мкм

В фиброзной ткани грыжевого мешка пупочной грыжи также выявлена аналогичная закономерность: медиана выраженной экспрессии маркера коллагена 1 типа составила 33,5 (18,0; 50,0) %, коллагена 3 типа – 8,0 (3,0; 18,0) %. Соотношение выраженной экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа было равно 4,2 : 1,0 ( $p = 0,0091$ ). Изменение коллагенообразования в разных участках кожи пупочной грыжи достоверно отличались изменением экспрессии маркера коллагена 1 типа ( $p = 0,0044$ ), без значимых изменений экспрессии коллагена 3 типа ( $p = 0,5050$ ).

Выявленный характер экспрессии коллагена 1 и 3 типа в дерме кожи по краю резекции грыжевого выпячивания у мужчин с пупочной грыжей указывали на недостаточную регуляторную активность коллагена 3 типа и снижение формирования полноценных коллагеновых волокон 1 типа, что и явилось причиной образования грыжевого выпячивания вследствие снижения прочности дермы кожи в сочетании с другими этиологическими факторами. Нарастание экспрессии маркера коллагена 1 типа в дерме кожи над грыжевым выпячиванием и в фиброзной ткани грыжевого мешка пупочной грыжи указывали на включение компенсаторных механизмов активации синтеза данного коллагена при растяжении фиброзной ткани.

Герниопластика пупочной грыжи выполнена у шести женщин. В дерме кожи по краю резекции представленного комплекса мягких тканей передней брюшной стенки женщин медиана выраженной экспрессии маркера коллагена 1 типа составила 2,3 (2,0; 3,0) %, коллагена 3 типа – 8,0 (3,0; 18,0) %.

коллагена 3 типа – 8,6 (7,0; 10,0) %. Соотношение выраженной экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа было равно 1:3,6 ( $p = 0,0002$ ). В дерме кожи над грыжевым выпячиванием медиана выраженной экспрессии маркера коллагена 1 типа составила 12,5 (9,0; 14,0) %, коллагена 3 типа – 17,0 (12,0; 19,0) %. Соотношение выраженной экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа было равно 1,0 : 1,4 ( $p = 0,0640$ ). В фиброзной ткани грыжевого мешка пупочной грыжи также выявлена аналогичная закономерность: медиана выраженной экспрессии маркера коллагена 1 типа составила 22,5 (17,0; 34,0) %, коллагена 3 типа – 25,5 (19,0; 37,0) %. Соотношение выраженной экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа было равно 1,0 : 1,1 ( $p = 0,6501$ ). Изменение коллагенообразования в дерме кожи из разных участков в области пупочной грыжи достоверно отличались нарастанием экспрессии маркера коллагена 1 типа ( $p = 0,0077$ ) и коллагена 3 типа ( $p = 0,0044$ ).

Выявленный характер экспрессии коллагена 1 и 3 типов в дерме кожи по краю резекции грыжевого выпячивания у женщин с пупочной грыжей также указывали на недостаточную регуляторную активность коллагена 3 типа и снижение формирования полноценных коллагеновых волокон 1 типа. Нарастание экспрессии коллагенов 1 и 3 типа в соотношении практически 1:1 в фиброзной ткани грыжевого мешка указывало на нарушение синтеза полноценных молекул коллагена 1 типа у женщин с пупочной грыжей.

**Заключение.** В ходе исследования характера экспрессии маркеров коллагена 1 и 3 типов в дерме кожи и фиброзной ткани грыжевого мешка пациентов с пупочной и паховой грыжей выявлены различия коллагенообразования среди мужчин и женщин: у женщин наблюдалась активация синтеза обоих коллагенов в фиброзной ткани грыжевого мешка как при развитии паховой грыжи (соотношение экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа составило 1 : 1,1,  $p = 0,5205$ ), так и пупочной грыжи (соотношение экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа составило 1 : 1,1,  $p = 0,6501$ ). Следовательно, у пациентов женского пола с формированием грыж в соединительной ткани мягких тканей передней брюшной стенки и кожи наблюдается нарушение синтеза коллагена 3 типа, что сопровождается изменением формирования коллагена 1 типа и способствует нарушению прочности кожи и соединительной ткани.

У лиц мужского пола при развитии паховой грыжи отмечена активация синтеза коллагена 3 типа (соотношение экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа составило 1 : 4,2,  $p = 0,0002$ ), при развитии пупочной грыжи – активация синтеза коллагена 1 типа (соотношение экспрессии коллагена 1 типа к коллагену 3 типа составило 4,2 : 1,0,  $p = 0,0028$ ) в фиброзной ткани грыжевого мешка. Полученные данные указывают на различия коллагенообразования у лиц мужского пола в области мезогастрия передней брюшной стенки и паховой области. В соединительной ткани передней брюшной стенки мужчин наблюдалась активация синтеза коллагена 3 типа с нарушением синтеза коллагена 1 типа. В паховой области – активный синтез коллагена 1 типа не обеспечивал должную плотность соединительной ткани, что способствовало развитию грыжи.

Выявленные данные характера коллагенообразования при развитии грыж указывают на необходимость коррекции в послеоперационной реабилитации пациентов разного пола с данным заболеванием.

*Исследование выполнено при финансировании Белорусским фондом фундаментальных исследований (договор М23УЗБ-017 от 20.11.2023 г. «Оценка риска развития рецидива после пластики вентральных грыж в зависимости от особенностей соединительной ткани и кожи пациентов»).*

#### Литература:

- [1]. Чарышкин А.Л., Фролов А.А. Общий взгляд на технологии профилактики и лечения пациентов с послеоперационными вентральными грыжами / Ульяновский медико-биологический журнал. 2015. № 2. С. 39–46.

- [2]. *Е.Е. Лукоянычев и др.* Общий взгляд на технологии профилактики и лечения пациентов с послеоперационными вентральными грыжами // Исследования и практика в медицине. 2021. Т. 8, № 3. С. 84–96.
- [3]. *B. Cirocchi et al.* Comparison of Hernia Sac Transection and Full Sac Reduction for the Treatment of Inguinal Hernias: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials // World J Surg. 2025. Vol. 49. № 3. P. 590–604.
- [4]. *Д.И. Головач и др.* Динамика реактивных изменений тканей передней брюшной стенки при имплантации полипропиленовой сетки, обработанной обогащенной тромбоцитами плазмой // Хирургия. Восточная Европа. 2022. Т. 11. № 4. С. 546–557.
- [5]. *R.M. Blotta et al.* Collagen I and III in women with diastasis recti // Clinics. 2018. Vol. 73, Art. e319. P. 1–5.
- [6]. *F. Zhao et al.* Decrease collagen type III synthesis in skin fibroblasts is associated with parastomal hernia following colostomy // International journal of molecular medicine. 2019. Vol. 44. P. 1609–1618.
- [7]. *K. Jungle et al.* Decrease collagen type I/III ratio in patients with recurring hernia after implantation // Langenbecks Arch Surg. 2004. Vol. 389. P. 17–22.

*S. N. RJABCEVA<sup>1</sup>, M. A. KORNEEVA<sup>1</sup>, A. O. CHABATAR<sup>1</sup>, I. A. SIAMIONIK<sup>1</sup>, A. YU. SHALABODOVA<sup>1</sup>, D. I. GALAVACH<sup>2</sup>, V. M. KUNZ<sup>2</sup>*

### **CO-EXPRESSION OF COLLAGEN TYPE 1 AND 3 IN CONNECTIVE TISSUE OF THE HERNIAL SAC AND SKIN IN THE AREA OF HERNIAL PROCESSING IN PATIENTS OF DIFFERENT GENDER**

<sup>1</sup> *State Scientific Institution "Institute of Physiology of National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup> *Healthcare Institution "6th City Clinical Hospital", Minsk, Republic of Belarus*

#### **Summary**

We analyzed the expression pattern of collagen type 1 and 3 in the dermis of the skin and fibrous tissue of the hernial sac of patients with umbilical and inguinal hernia. Differences in collagen formation were revealed among men and women, which indicates the need for correction of postoperative rehabilitation of patients of different sexes with this disease.

*Keywords:* hernia of the anterior abdominal wall, collagen type 1, collagen type 3, gender difference.