

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

КИСЛОВ ОЛЕКСАНДР ВІКТОРОВИЧ

УДК: 57.088.6:57.084:616-089-74:615.46:669.294(043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ

**БІОХІМІЧНЕ ТА МОРФОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ЗАСТОСУВАННЯ ПОКРИТТІВ НА ОСНОВІ ТАНТАЛА У
ХІРУРГІЧНІЙ ПРАКТИЦІ**

за спеціальністю 222 «Медицина», галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне

джерело _____ Кислов О. В.

Науковий керівник – **Наконечна Оксана Анатоліївна**, доктор медичних
наук, професор

м. Харків - 2024

АНОТАЦІЯ

Кислов О. В. Біохімічне та морфологічне обґрунтування застосування покриттів на основі танталу у хірургічній практиці. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина, галузь знань – 22 Охорона здоров'я. – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2024.

Дисертація присвячена підвищенню ефективності хірургічного лікування при герніопластиці на передній черевній стінці, попередженню ускладнень та спайкоутворення у хірургічних пацієнтів із грижами на підставі біохімічного та морфологічного обґрунтування застосування хірургічних сіток із нанесенням покриттів на основі танталу та його похідних (оксиду танталу та нітриду танталу) за допомогою методу реактивного магнетронного нанесення.

Експериментальне дослідження проводилося на 40 щурах-самцях популяції WAG, віком 5-6 місяців та масою 220 ± 20 г, отриманих з експериментальної біологічної клініки Харківського національного медичного університету. Методом випадкової вибірки експериментальні тварини були поділені на 6 груп: до першої (інтактної) групи увійшло 6 щурів. До другої групи увійшло 6 щурів, яким було проведено хірургічне втручання, але без імплантації хірургічної сітки. До третьої групи увійшло 7 щурів з імплантованою хірургічною сіткою, покритою танталом. До четвертої групи увійшло 7 щурів з імплантованою хірургічною сіткою, покритою оксидом танталу, до п'ятої групи – 7 щурів з імплантованою хірургічною сіткою, покритою нітридом танталу. Шосту групу становили 7 щурів з імплантованою хірургічною сіткою без покриття. У експерименті використовувалася поліпропіленова хірургічна сітка «Омега II стандарт» (Укртехмед, Україна) розміром 15x15 мм. Різновиди покриттів: тантал, оксид танталу (Ta_2O_5) та нітрид танталу (TaN) на поверхні хірургічних

сіток наносили методом реактивного магнетронного напилення у вакуумній камері на базі навчально-наукового інституту «Фізико-технічний факультет» Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Проведене дослідження ухвалено комісією з етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол № 3 від 21.09.2020 року).

У результаті проведеного дослідження за допомогою проточної цитофлюорометрії виявлено, що при імплантації хірургічних сіток як без покриття, так і з покриттям на основі нітриду танталу спостерігалася значна генерація АФК лейкоцитами: підвищувалася на 117,8 % і 129,6 % відповідно у порівнянні з інтактними тваринами. Встановлено, що після імплантації хірургічної сітки без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу було визначено гіперпродукцію АФК лейкоцитами крові щурів, що призводило до розвитку оксидативного стресу, порушенню фізико-хімічних властивостей, структурно-функціонального стану клітинних мембран та розвитку апоптозу лейкоцитів крові.

Аналіз видів клітинної смерті лейкоцитів периферичної крові щурів методом проточної цитометрії показав, що у групі експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі танталу встановлено незначне зниження відсотку життєздатних клітин у порівнянні з результатами у інтактних тварин на 3,4 %. Аналіз видів клітинної смерті у щурів групи 4, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі оксиду танталу, продемонстрував незначне зниження відсотку життєздатних лейкоцитів у порівнянні з результатами у інтактних тварин на 5,3 %. Відсоток некротичних клітин був вище на 2,2 % у порівнянні із результатами у інтактних тварин.

Аналіз видів клітинної смерті у групі експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі нітриду танталу продемонстрував зниження відсотку життєздатних лейкоцитів у порівнянні з результатами у інтактних тварин на 12,9 % ($p < 0,0001$).

Відсоток некротичних лейкоцитів був на 3,8 % вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин ($p < 0,0001$).

Аналіз видів клітинної смерті у групі експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку без покриттям (група б) статистично продемонстрував зниження відсотку життєздатних лейкоцитів у порівнянні із результатами у інтактних тварин на 16,2 % ($p < 0,0001$). Відсоток некротичних клітин був на 6,9 % вище у порівнянні із результатами групи 1 ($p < 0,0001$).

Встановлено, що імплантація поліпропіленових хірургічних сіток без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу призводить до зниження відсотку життєздатних лейкоцитів крові щурів у порівнянні з отриманими результатами у інтактних тварин внаслідок активації процесів апоптозу лейкоцитів. Про це свідчить значне збільшення відсотку пізньоапоптичних та некротичних клітин у даних групах щурів.

Отримані за допомогою проточної цитофлюорометрії дані вказували нам на розвиток оксидативного стресу у групах експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленову хірургічну сітку без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу, що було підтверджено за допомогою біохімічних досліджень.

У ході проведеного дослідження на 28 добу було визначено підвищення вмісту основного показника оксидантної системи 8-ізопростану в крові практично у всіх досліджуваних групах експериментальних тварин, що може вказувати на розвиток патологічних станів, зокрема оксидативного стресу, що впливає на життєздатність лейкоцитів та створює дисбаланс в оксидантно-антиоксидантній системі організму. В залежності від застосування хірургічних сіток із різними типами покриттів ми спостерігали відмінності за ступенем розвитку оксидативного стресу, що відображалось на вмісті 8-ізопростану.

У результаті проведених досліджень на 28 добу було визначено, що вміст 8-ізопростану в крові експериментальних тварин, яким було

імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст 8-ізопростану був на 106,2 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин ($p < 0,0001$). У щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу вміст 8-ізопростану в крові був на 108,9 % вище у порівнянні із показниками інтактних тварин ($p < 0,0001$).

У експериментальних щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу вміст 8-ізопростану в крові статистично був на 172,9 % вище у порівнянні із показниками групи інтактних тварин ($p < 0,0001$). У той же час у експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття, вміст 8-ізопростану статистично був на 156,9 % вище у порівнянні із показником у інтактних тварин ($p < 0,0001$).

Встановлено, що при імплантації хірургічних сіток на основі танталу та його похідних (оксиду та нітриду танталу) спостерігалось підвищення активності як СОД1, так і каталази. Більш виразні зміни визначених показників спостерігалися у щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу та хірургічні сітки без покриття.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу активність СОД 1 була на 126,6 % вище у порівнянні із показниками групи інтактних тварин ($p < 0,0001$). Активність каталази при цьому була на 86,7 % вище у порівнянні із показниками групи інтактних тварин ($p < 0,0001$). У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття, активність СОД 1 була на 126,3 % вище у порівнянні із показниками групи інтактних тварин ($p < 0,0001$). Активність каталази при цьому була на 92,4 % вище у порівнянні із показниками групи інтактних тварин ($p < 0,0001$).

Зміна вмісту білків «гострої фази» в периферичній крові є однією з найбільш інформативних реакцій організму при імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Ключовими білками є С-реактивний білок (СРБ), гаптоглобін та церулоплазмін, які можуть служити маркерами розвитку запального процесу у відповідь на хірургічне втручання та імплантацію інородного тіла.

У щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу вміст СРБ був на 228,8 % вище у порівнянні із показниками у групи інтактних тварин ($p=0,0001$). Більш значуще підвищення СРБ спостерігалось у щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття, а саме вміст даного біохімічного маркеру був у 3,6 рази вище у порівнянні із показниками групи інтактних тварин ($p<0,0001$).

Аналіз отриманих результатів визначення вмісту гаптоглобіну показав найбільш значущі зміни у експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу, вміст гаптоглобіну був на 130,0 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p<0,0001$). У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття, вміст гаптоглобіну був на 110,4 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p<0,0001$).

Було визначено, що вміст церулоплазміну в крові експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст церулоплазміну був на 32,6 % вище у порівнянні із показниками у групі інтактних тварин (група 1) ($p=0,0313$). У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу вміст церулоплазміну був на 29,35 % вище у порівнянні із результатами групи інтактних тварин ($p<0,0001$).

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу вміст церулоплазміну був на 50,6 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p < 0,0001$). У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття вміст церулоплазміну був найвищий показник, а саме на 52,65 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p < 0,0001$).

Дослідження вмісту сіроглікоїдів дозволило нам визначити наявність тривалого запального процесу у місці імплантації. На відміну від C - реактивного білку, гаптоглобіну та церулоплазміну, сіроглікоїди підвищуються повільніше у крові після хірургічного втручання та більш тривалий час залишаються високими.

При аналізі отриманих наступних результатів визначення гострофазових показників доведено, що вміст сіроглікоїдів в крові експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст сіроглікоїдів був у 2,95 рази нижче у порівнянні із показниками групи 1 ($p < 0,0001$). У тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу вміст сіроглікоїдів був на 34,0 % нижче у порівнянні із результатами групи 1 ($p < 0,0001$).

У щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу, вміст сіроглікоїдів був на 9,2 % нижче у порівнянні із показниками групи 1 ($p = 0,0127$). У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття вміст сіроглікоїдів був на 24,1 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p < 0,0001$).

Значні зміни вмісту білків «гострої фази» було підтверджено визначення вмісту прозапальних цитокінів, а саме інтерлейкіну-1 бета (ІЛ-1 β) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6). Аналіз результатів визначення вмісту ІЛ-1 β показав найбільш значущі зміни у експериментальних тварин, яким було

імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу, а саме вміст ІЛ-1 β був на 44,4 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p < 0,0001$) та у експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття вміст ІЛ-1 β був на 70,9 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p < 0,0001$).

Аналіз результатів визначення вмісту ІЛ-6 в крові показав подібні результати. У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу вміст ІЛ-6 був на 68,6 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p < 0,0001$). За умов імплантації поліпропіленових хірургічних сіток без покриття вміст ІЛ-6 був найбільш підвищений, а саме на 80,2 % вище у порівнянні із показниками групи 1 ($p < 0,0001$).

Таким чином, біохімічно обґрунтовано, що використання хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу, значно покращує біосумісність імпланту та не провокує розвиток тривалого запального процесу, який може призвести до виникнення спайкового та гнійно-септичного процесів у місці імплантації. Дані висновки ми можемо зробити на основі отриманих результатів щодо визначення прозапальних цитокінів (інтерлейкіну-1 бета та інтерлейкіну-6), білків гострої фази (СРБ, гаптоглобіну, церулоплазміну та сіроглікоїдів), 8-ізопростану та показників стану оксидантно - антиоксидантної системи (СОД 1 та каталази). Значне збільшення таких показників як 8-ізопростан, СРБ, ІЛ-1 β , ІЛ-6 та сіроглікоїдів дають змогу використовувати їх як маркери розвитку ускладнень при герніопластиці.

Нами також було проведено комплексне морфологічне дослідження передньої черевної стінки щурів з ділянки проведеного оперативного втручання з метою обґрунтування застосування хірургічних сіток із нанесенням покриттів на основі танталу та його похідних (оксиду танталу та нітриду танталу).

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6), в ділянці проведеного оперативного втручання, по-перше, реєструвалося пригноблення процесів загоєння рани порівняно зі щурами, яким було проведено втручання без імплементації хірургічної сітки (група 2); по-друге, визначалися в товщі регенерату, дермі, гіподермі, м'язовій та сполучній тканинах дифузна сильно виражена поліморфна клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного ряду, нейтрофільними лейкоцитами; помірно виражені гемодинамічні порушення; альтеративні зміни у м'язових волокнах м'язового шару. Навкруги хірургічної сітки формувалася шар незрілої грануляційної тканини, що характеризувалася превалювання процесів апоптозу над проліферативними процесами. У 6 тварин (85,7% випадків) між сіткою та шаром грануляційної тканини було виявлено гнійний, фібринозно-гнійний ексудат, що виходив на поверхню епідермісу через сформований норичевий хід. У всіх тварин до шару грануляційної тканини щільно прилягали фрагменти брижі кишечника, що свідчило про розвиток спайкового процесу.

У щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5), особливості загоєння рани, характер та ступінь вираженості загальнопатологічних процесів у дермі, гіподермі, шарах м'язової та сполучної тканин; морфологічні особливості шару грануляційної тканини навкруги сітки (її ступінь зрілості, товщина, наявна кількість в ній судин, кількість p53- та Ki-67-позитивних клітин) не відрізнялися від тварин з імплантованою хірургічною сіткою без покриття (група 6).

У щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу (група 3), реєструвалося органотипове загоєння рани; в дермі, гіподермі, м'язовій та сполучній тканинах відмічалися помірна вогнищево-дифузна клітинна інфільтрація,

представлена переважно лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного дифферону, та вогнищеві склеротичні зміни. Порівняно з групами 5 та 6 у даних тварин грануляційна тканина, що формувалася навкруги сітки та вросла в її отвори, була зрілою; мала більшу ($p < 0,05$) товщину; більшу ($p < 0,05$) кількість судин, що покращує трофіку даної тканини, сприяє швидкому її дозріванню і перетворенню у сполучну тканину; меншу ($p < 0,05$) кількість p53-позитивних клітин та більшу кількість Ki-67-позитивних клітин з превалюванням останніх; не прилягала до брижі кишечника, що свідчило про відсутність спайкового процесу.

У щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (група 4), були виявлені подібні до групи 3 морфологічні особливості загоєння рани; характер та ступінь вираженості загальнопатологічних процесів у дермі, гіподермі, м'язовій та сполучній тканинах; гістологічні, імуногістохімічні та морфометричні особливості грануляційної тканини, що сформувалася навкруги хірургічної сітки.

Таким чином, проведене комплексне морфологічне дослідження довело, що хірургічні сітки на основі танталу та оксиду танталу призводять до органотипового загоєння рани; зменшують ступінь вираженості гемодинамічних та запальних змін у дермі, гіподермі, шарах м'язової та сполучної тканини; зменшують ступінь вираженості альтеративних змін м'язових волокон шару м'язової тканини; стимулюють ангиогенез, активізують процеси проліферації та пригноблюють процеси апоптозу в грануляційній тканині, що обростає хірургічну сітку та вростає в її отвори, що, відповідно, стимулює її ріст та дозрівання; попереджають розвиток спайкового процесу.

Ключові слова: хірургічна сітка, тантал, оксид танталу, нітрид танталу, застосування в хірургічній практиці, морфологічне та біохімічне обґрунтування.

SUMMARY

Kyslov O. V. Biochemical and morphological justification of the use of tantalum-based coatings in surgical practice. - Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 - Medicine, field of knowledge - 22 Health care. - Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2024.

The dissertation is devoted to increasing the effectiveness of surgical treatment during hernioplasty on the anterior abdominal wall, preventing complications and adhesion formation in surgical patients with hernias based on the biochemical and morphological justification of the use of surgical meshes with coatings based on tantalum and its derivatives (tantalum oxide and tantalum nitride) using the method reactive magnetron deposition.

The experimental study was conducted on 40 male rats of the WAG population, aged 5-6 months and weighing 220 ± 20 g, obtained from the experimental biological clinic of the Kharkiv National Medical University. Experimental animals were divided into 6 groups by the method of random sampling: the first (intact) group included 6 rats. The second group included 6 rats that underwent surgery, but without surgical mesh implantation. The third group included 7 rats with an implanted surgical mesh coated with tantalum. The fourth group included 7 rats with an implanted surgical mesh covered with tantalum oxide, and the fifth group included 7 rats with an implanted surgical mesh covered with tantalum nitride. The sixth group consisted of 7 rats with an implanted surgical mesh without a coating. Polypropylene surgical mesh "Omega II standard" (Ukrtehmed, Ukraine) measuring 15x15 mm was used in the experiment. Varieties of coatings: tantalum, tantalum oxide (Ta_2O_5) and tantalum nitride (TaN) were applied to the surface of surgical meshes by the method of reactive magnetron sputtering in a vacuum chamber based on the educational and scientific institute "Faculty of Physics and Technology" of

Kharkiv National University named after V.N. Karazin. The conducted research was approved by the ethics and bioethics commission of the Kharkiv National Medical University (protocol No. 3 dated September 21, 2020).

As a result of the research conducted using flow cytometry, it was found that during the implantation of surgical meshes both without coating and with coating based on tantalum nitride, a significant generation of ROS by leukocytes was observed: it increased by 117.8% and 129.6%, respectively, compared to intact animals. It was established that after implantation of a surgical mesh without a coating and with a coating based on tantalum nitride, hyperproduction of ROS by blood leukocytes of rats was determined, which led to the development of oxidative stress, violation of the physical and chemical properties, structural and functional state of cell membranes and the development of apoptosis of blood leukocytes.

Analysis of the types of cell death of peripheral blood leukocytes of rats by flow cytometry showed that in the group of experimental animals implanted with a surgical mesh with a tantalum-based coating, a slight decrease in the percentage of viable cells was established by 3.4% compared to the results of intact animals. Analysis of the types of cell death in group 4 rats implanted with tantalum oxide-based surgical mesh showed a slight decrease in the percentage of viable leukocytes compared to the results of intact animals by 5.3%. The percentage of necrotic cells was higher by 2.2% compared to the results in intact animals.

Analysis of the types of cell death in the group of experimental animals that were implanted with a surgical mesh with a coating based on tantalum nitride demonstrated a decrease in the percentage of viable leukocytes compared to the results in intact animals by 12.9% ($p < 0.0001$). The percentage of necrotic leukocytes was 3.8% higher compared to the results in intact animals ($p < 0.0001$).

Analysis of the types of cell death in the group of experimental animals that were implanted with surgical mesh without coating (group 6) statistically

demonstrated a decrease in the percentage of viable leukocytes compared to the results in intact animals by 16.2% ($p < 0.0001$). The percentage of necrotic cells was 6.9% higher compared to the results of group 1 ($p < 0.0001$).

It was established that the implantation of polypropylene surgical meshes without coating and with a coating based on tantalum nitride leads to a decrease in the percentage of viable leukocytes in the blood of rats in comparison with the results obtained in intact animals due to the activation of leukocyte apoptosis processes. This is evidenced by a significant increase in the percentage of late apoptotic and necrotic cells in these groups of rats.

The flow cytometric data indicated to us the development of oxidative stress in groups of experimental animals implanted with uncoated and coated polypropylene surgical mesh based on tantalum nitride, which was confirmed by biochemical studies.

During the study, on the 28th day, an increase in the content of the main indicator of the oxidant system 8-isoprostane in the blood was determined in almost all studied groups of experimental animals, which may indicate the development of pathological conditions, in particular oxidative stress, which affects the viability of leukocytes and creates an imbalance in the oxidant - antioxidant system of the body. Depending on the use of surgical meshes with different types of coatings, we observed differences in the degree of development of oxidative stress, which was reflected in the content of 8-isoprostane.

As a result of the conducted research on the 28th day, it was determined that the content of 8-isoprostane in the blood of experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes with a tantalum-based coating, the content of 8-isoprostane was 106.2% higher compared to the values of intact animals ($p < 0.0001$). In rats that were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum oxide, the content of 8-isoprostane in the blood was 108.9% higher compared to the parameters of intact animals ($p < 0.0001$).

In experimental rats, which were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum nitride, the content of 8-isoprostane in the blood was statistically 172.9% higher in comparison with the parameters of the group of intact animals ($p < 0.0001$). At the same time, in experimental animals implanted with polypropylene surgical mesh without coating, the content of 8-isoprostane was statistically 156.9% higher than in intact animals ($p < 0.0001$).

It was established that during the implantation of surgical meshes based on tantalum and its derivatives (tantalum oxide and nitride), an increase in the activity of both SOD1 and catalase was observed. More pronounced changes in the determined indicators were observed in rats that were implanted with surgical meshes with a coating based on tantalum nitride and surgical meshes without a coating.

In experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum nitride, the activity of SOD 1 was 126.6% higher compared to the parameters of the group of intact animals ($p < 0.0001$). At the same time, the activity of catalase was 86.7% higher in comparison with the indicators of the group of intact animals ($p < 0.0001$). In experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes without coating, the activity of SOD 1 was 126.3% higher compared to the parameters of the group of intact animals ($p < 0.0001$). At the same time, the activity of catalase was 92.4% higher in comparison with the indicators of the group of intact animals ($p < 0.0001$).

The change in the content of "acute phase" proteins in the peripheral blood is one of the most informative reactions of the body during the implantation of surgical meshes with a coating based on tantalum and its derivatives. The key proteins are C-reactive protein (CRP), haptoglobin, and ceruloplasmin, which may serve as markers of the development of the inflammatory process in response to surgery and foreign body implantation.

In rats, which were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum nitride, the content of CRP was 228.8% higher compared to the values in the group of intact animals ($p=0.0001$). A more significant increase in CRP was observed in rats that were implanted with polypropylene surgical meshes without coating, namely, the content of this biochemical marker was 3.6 times higher compared to the values of the group of intact animals ($p<0.0001$).

The analysis of the obtained results of determining the haptoglobin content showed the most significant changes in experimental animals that were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum nitride, the haptoglobin content was 130.0% higher compared to the indicators of group 1 ($p<0.0001$). In experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes without coating, the content of haptoglobin was 110.4% higher compared to the indicators of group 1 ($p<0.0001$).

It was determined that the content of ceruloplasmin in the blood of experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum, the content of ceruloplasmin was 32.6% higher in comparison with the indicators in group 1 ($p=0.0313$). The ceruloplasmin content was 29.35% higher in experimental animals implanted with polypropylene surgical meshes coated with tantalum oxide compared to the results of the group of intact animals ($p<0.0001$).

In experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum nitride, the content of ceruloplasmin was 50.6% higher compared to the indicators of group 1 ($p<0.0001$). In experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical mesh without coating, the content of ceruloplasmin was the highest, namely 52.65% higher compared to the values of group 1 ($p<0.0001$).

The study of the content of siroglycoides allowed us to determine the presence of a long-term inflammatory process at the site of implantation. Unlike

C-reactive protein, haptoglobin and ceruloplasmin, siroglycoides increase more slowly in the blood after surgery and remain high for a longer time.

When analyzing the following results of determining acute phase indicators, it was proven that the content of siroglycoides in the blood of experimental animals that were implanted with polypropylene surgical meshes with a tantalum-based coating, the content of siroglycoids was 2.95 times lower in comparison with the indicators of group 1 ($p < 0.0001$). In animals that were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum oxide, the content of siroglycoides was 34.0% lower compared to the results of group 1 ($p < 0.0001$).

Rats implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum nitride had a 9.2% lower siroglycoid content compared to group 1 ($p = 0.0127$). In experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes without coating, the content of siroglycoides was 24.1% higher compared to the indicators of group 1 ($p < 0.0001$).

Significant changes in the content of "acute phase" proteins were confirmed by the determination of the content of pro-inflammatory cytokines, namely interleukin-1 beta (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6). The analysis of the results of determination of the content of IL-1 β showed the most significant changes in experimental animals that were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum nitride, namely, the content of IL-1 β was 44.4% higher in comparison with the indicators of group 1 ($p < 0.0001$) and in experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes without coating, the content of IL-1 β was 70.9% higher compared to the indicators of group 1 ($p < 0.0001$).

Analysis of the results of determination of IL-6 content in the blood showed similar results. In experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum nitride, the content of IL-6 was 68.6% higher compared to the indicators of group 1 ($p < 0.0001$). Under the conditions of implantation of polypropylene surgical

meshes without coating, the content of IL-6 was the most elevated, namely by 80.2% higher compared to the indicators of group 1 ($p < 0.0001$).

Thus, it is biochemically substantiated that the use of surgical meshes with a coating based on tantalum and tantalum oxide significantly improves the biocompatibility of the implant and does not provoke the development of a long-term inflammatory process, which can lead to the occurrence of adhesions and purulent-septic processes at the implantation site. We can draw these conclusions based on the results obtained regarding the determination of pro-inflammatory cytokines (interleukin-1 beta and interleukin-6), acute phase proteins (CRP, haptoglobin, ceruloplasmin and syroglycoides), 8-isoprostane and indicators of the state of the oxidant-antioxidant system (SOD 1 and catalases). A significant increase in such indicators as 8-isoprostane, CRP, IL-1 β and IL-6 makes it possible to use them as markers of the development of complications during hernioplasty.

We also conducted a comprehensive morphological study of the anterior abdominal wall of rats from the site of the surgical intervention to substantiate the use of surgical meshes with coatings based on tantalum and its derivatives (tantalum oxide and tantalum nitride).

In experimental animals, which were implanted with polypropylene surgical meshes without coating (group 6), in the area of the surgical intervention, firstly, the suppression of the wound healing processes was registered compared to rats that underwent an intervention without implementation of a surgical mesh (group 2); secondly, a diffuse strongly pronounced polymorphic cellular infiltration was determined in the regenerate layer, dermis, hypodermis, muscle and connective tissues, represented mainly by lymphocytes, macrophages, cells of the fibroblastic series, and neutrophilic leukocytes; moderately expressed hemodynamic disorders; alterative changes in the muscle fibers of the muscle layer. A layer of immature granulation tissue was formed around the surgical mesh, which was characterized by the predominance of apoptotic processes over proliferative processes. In 6 animals

(85.7% of cases) purulent, fibrinous-purulent exudate was found between the grid and the layer of granulation tissue, which reached the surface of the epidermis through the formed fistula. In all animals, the fragments of intestinal mesentery closely adhered to the layer of granulation tissue, which indicated the development of the adhesion process.

In rats, which were implanted with surgical meshes with a coating based on tantalum nitride (group 5), the features of wound healing, the nature and degree of severity of general pathological processes in the dermis, hypodermis, layers of muscle and connective tissues; morphological characteristics of the layer of granulation tissue around the mesh (its degree of maturity, thickness, number of vessels present in it, number of p53- and Ki-67-positive cells) did not differ from animals with implanted surgical mesh without covering (group 6).

Organotypic wound healing was recorded in rats implanted with tantalum-based polypropylene surgical meshes (group 3); in the dermis, hypodermis, muscle and connective tissues, moderate focal-diffuse cellular infiltration, represented mainly by lymphocytes, macrophages, fibroblastic differon cells, and focal sclerotic changes were noted. Compared with groups 5 and 6, in these animals, the granulation tissue that formed around the mesh and grew into its holes was mature; had a greater ($p < 0.05$) thickness; a greater ($p < 0.05$) number of blood vessels, which improves the trophism of this tissue, contributes to its rapid maturation and transformation into connective tissue; a smaller ($p < 0.05$) number of p53-positive cells and a larger number of Ki-67-positive cells with a predominance of the latter; did not adhere to the mesentery of the intestine, which indicated the absence of an adhesion process.

Rats implanted with polypropylene surgical meshes with a coating based on tantalum oxide (group 4) showed morphological features of wound healing like group 3; the nature and degree of expression of general pathological processes in the dermis, hypodermis, muscle, and connective tissues; histological, immunohistochemical and morphometric features of the granulation tissue formed around the surgical mesh.

Thus, the conducted complex morphological study proved that surgical nets based on tantalum and tantalum oxide lead to organotypic wound healing; reduce the severity of hemodynamic and inflammatory changes in the dermis, hypodermis, layers of muscle and connective tissue; reduce the severity of alterative changes in the muscle fibers of the muscle tissue layer; stimulate angiogenesis, activate proliferation processes and suppress apoptosis processes in the granulation tissue that overgrows the surgical mesh and grows into its openings, which, accordingly, stimulates its growth and maturation; prevent the development of the adhesion process.

Keywords: surgical mesh, tantalum, tantalum oxide, tantalum nitride, use in surgical practice, morphological and biochemical justification.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2023). Визначення стану антиоксидантної системи у щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. *Експериментальна і клінічна медицина*, 4 (92), 17-23. <https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.4.nak>. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

2. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2023). 8-Ізопростан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*, 4 (98), 28–34. <https://doi.org/10.25040/ecrb2023.04.028>. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

3. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2024). Роль прозапальних цитокінів в організмі щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. *Вісник проблем біології і медицини*, 1 (172), 203-208. DOI: 10.29254/2077-4214-2024-1-172-203-208. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку.)*

4. Nakonechna O.A., Smachylo R.M, Dudin S.V., Kyslov O.V. (2024). Reactive oxygen species generation by blood leukocytes of rats after implantation of surgical mesh with tantalum-based coating. *Медична та клінічна хімія*, 1 (26), 5-10. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14591>. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження,*

аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).

5. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2024). Визначення білків гострої фази в крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія, 1 (99), 40-48. <https://doi.org/10.25040/escpb2024.01.040>. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

Опубліковані наукові праці апробаційного характеру:

6. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Дудін С.В., Кислов О.В. Визначення патологічних змін в організмі щурів після імплантації матеріалів з покриттям на основі тантала. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (01 жовтня 2021 р., Харків, Україна), С. 197-199. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку.)*

7. Кислов О.В. Генерація активних форм кисню у лейкоцитах щурів після імплантації матеріалів з покриттям на основі танталу. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 24-26 січня 2022 р.), С. 376-379. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку).*

8. Кислов О.В. Порівняльна характеристика генерації активних форм кисню у лейкоцитах щурів після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та на основі титану. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 13-15 лютого 2023 р.), С. 174-177. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку).*

9. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В. Визначення концентрації 8-ізопростану в крові щурів після імплантації хірургічної сітки з покриттям на основі танталу та його похідних. VI науково - практична конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, Україна, 16 листопада 2023 р.), С. 339-341. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку)*

10. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В., Янковська Д.О. Види клітинної життєздатності лейкоцитів крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Міжнародна науково-практична конференції «Стовбурові клітини для моделювання та лікування захворювань» (м. Краків, Польща, 29-30 листопада 2023 р.), С. 101-103. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку).*

11. Кислов О.В. Церулоплазмін в крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних як маркер стану антиоксидантної системи. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), С. 60-61. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку).*

12. Кислов О.В., Гейдаров Г. Вміст сіроглікоїдів у крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), С. 166-167. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку).*

13. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В. Вміст IL-1 β та IL-6 в крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. I Міжнародна науково-практична онлайн

конференція «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної біохімії та молекулярної біології» (м. Харків, Україна, 7 березня 2024 р.), С. 453-456. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку).*

Наукові праці, які додатково відображають результати дисертаційної роботи:

14. Кислов О.В. (2023). Сучасні уявлення про можливості застосування тантала та його похідних у медичній практиці (огляд літератури). *Science World Journal*, 2(22), 32-47. DOI: 10.30888/2663-5712.2023-22-02-011. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку).*

15. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір « 8-Ізопростан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних» № 125381 від 4 квітня 2024 року.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	27
ВСТУП.....	28
Розділ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ТАНТАЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ У МЕДИЧНІЙ ПРАКТИЦІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	
1.1. Світовий досвід лікування пахових гриж та наявні проблеми герніопластики	37
1.2. Морфологічні дослідження при застосуванні сітчастих імплантів.....	45
1.3. Загальна інформація щодо механічних властивостей та біологічної активності танталу та його похідних.....	50
1.4. Біосумісність та антибактеріальні властивості танталу та його похідних	56
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Дизайн експерименту.....	66
2.2. Протокол хірургічного втручання.....	68
2.3. Забір матеріалу, показники, що досліджуються, та методи їх виміру.....	69
2.4 Статистична обробка отриманих даних.....	82
Розділ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕРАЦІЇ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА ВИДІВ КЛІТИННОЇ СМЕРТІ ЛЕЙКОЦИТІВ ЩУРІВ ПІСЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ ХІРУРГІЧНИХ СІТОК З ПОКРИТТЯМ НА ОСНОВІ ТАНТАЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ	

3.1. Інтенсивність процесів генерації активних форм кисню лейкоцитами крові експериментальних тварин..... 84

3.2. Дослідження життєздатності лейкоцитів та видів клітинної смерті в крові експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних..... 96

Розділ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ЛІПІДНОЇ ПЕРОКСИДАЦІЇ, СТАНУ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ПОКАЗНИКІВ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ В КРОВІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ ХІРУРГІЧНИХ СІТОК З ПОКРИТТЯМ НА ОСНОВІ ТАНТАЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ

4.1. Оцінка вираженості процесів ліпідної пероксидації у експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних..... 110

4.2. Оцінка стану антиоксидантної системи у експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток без покриття та з покриттям на основі танталу та його похідних..... 116

4.3. Визначення вмісту білків гострої фази в крові експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних..... 123

4.4. Оцінка вмісту прозапальних цитокінів в крові експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних..... 137

Розділ 5. МОРФОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ХІРУРГІЧНИХ СІТОК ІЗ ПОКРИТТЯМ НА ОСНОВІ ТАНТАЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ ШЛЯХОМ ЗАСТОСУВАННЯ ОГЛЯДОВОЇ МІКРОСКОПІЇ ПРЕПАРАТІВ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЇ У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН..... 146

Розділ 6. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	
ДОСЛІДЖЕННЯ.....	168
ВИСНОВКИ.....	180
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	184
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	185
ДОДАТКИ	213

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

- АОС - антиоксидантна система
АОЗ - антиоксидантний захист
АФК - активні форми кисню
ВРО - вільнорадикальне окислення
ВРП - вільнорадикальна пероксидація
ДМСО - диметилсульфоксид
ДХФ - дихлорфлюоросцеїн
ІЛ - інтерлейкін
МКА - моноклональні антитіла
ММП - матриксна металопротеїназа
ПОЛ - перекисне окислення ліпідів
СІФ - середня інтенсивність флюоресценції
СОД - супероксиддисмутаза
СРБ - С-реактивний білок
ФНП- α - фактор некрозу пухлини- α
ЦП - церулоплазмін
MDA - малоновий діальдегід
RIPK - рецепторно - взаємодіюча протеїнкіназа
Та - тантал
Ta₂O₅ - оксид танталу
TaN - нітрид танталу
4-HNE - 4-гідроксиноненал
7 - AAD - 7-аміноактиноміцин D

ВСТУП

Актуальність теми. Грижа є досить поширеною патологією в Україні та світі, та вимагає хірургічного втручання. Розвиток грижі - це багатофакторний процес, пов'язаний з анатомічними вадами, атрофованими м'язами, підвищенням внутрішньочеревного тиску, хірургічними втручаннями або травмами. У більшості випадків грижі представляють ризик ущемлення, що у підсумку призводить до більш тяжких ускладнень [1]. Пахвинні грижі проявляються повним або частковим виходом органів черевної порожнини у пахвинний канал, і є одним з найпоширеніших захворювань, особливо у дорослих чоловіків [2]. Згідно статистичних результатів, щороку в усьому світі виконується понад 20 мільйонів герніопластик, а в Україні понад 20000 випадків, що робить пахвинні грижі однією з найчастіших причин для планових оперативних втручань [3].

Доктор Френсіс Ашер запропонував новий підхід у лікуванні пахвинних гриж - використання поліпропіленових сіток для корекції грижі [4], що зробило даний підхід до лікування значущим кроком у попередженні виникнення рецидивів у пацієнтів у післяопераційному періоді [5]. Згодом, даний метод став золотим стандартом лікування пахвинних гриж та здобув популярність у спеціалістів по всьому світу. Наразі в хірургічній практиці використовується більше 30 видів поліпропіленових хірургічних сіток, а в останні 20 років імплантація поліпропіленових сіток дає чудовий результат у поєднанні з лапароскопічним методом оперативного втручання, що значно скорочує час госпіталізації пацієнтів та дозволяє швидше повернутися їм до звичайного ритму життя [6].

Мініінвазивні втручання допомагають імплантувати хірургічні сітки внутрішньоочеревинно, останні безпосередньому контактують із структурами черевної порожнини. Але дана методика поєднана з

можливістю розвитку таких ускладнень, як виникнення спайкового процесу, кишкової непрохідності та утворення нориць [7]. Спайковий процес є важливою проблемою у хірургічній практиці. Зазвичай, він спостерігається після оперативних втручань внаслідок подразнення очеревини або хірургічної травми у черевній порожнині та характеризується фіброзом прилеглих тканин [8]. Поширеність виникнення спайкового процесу після імплантації поліпропіленових сіток становить від 14% до 68% [9]. Тож, наступний крок у герніології, який потребує ретельного вивчення - це удосконалення поліпропіленової хірургічної сітки шляхом нанесення на неї біосумісних покриттів для попередження виникнення спайкового процесу, що призведе до зниження відсотка післяопераційних втручань та пришвидшить процес одужання пацієнтів.

Існуючи на даний час стратегії хірургічного лікування гриж включають застосування різних типів хірургічних сіток. Тантал (Ta) та його похідні, а саме оксид танталу (Ta_2O_5) та нітрид танталу (TaN), є найбільш привабливими для вивчення біосумісних металів, враховуючи багаторічне успішне використання цього матеріалу для виготовлення імплантів у ортопедії, хірургії та ортодонтії [10,11]. Тантал має унікальні властивості, що роблять його основним матеріалом для застосування в ортопедії та хірургії. Серед основних характеристик танталу можна виділити високу корозійну стійкість, біосумісність та здатність до остеointegraції, що робить його пріоритетним матеріалом для виготовлення імплантів та протезів у ортопедії та ортодонтії [12]. Унікальна пориста структура танталу сприяє зростанню кісткової тканини всередині матеріалу, та забезпечує закріплення імплантату кісткової тканини без використання додаткових фіксуючих елементів. Біосумісність танталу характеризується його здатністю до взаємодії з навколишніми тканинами, але при цьому даний матеріал не провокує розвиток запальних

процесів, не змінює свої фізико-хімічні властивості в біологічному середовищі та не зазнає корозійних змін [13].

Саме завдяки корозійній стійкості, він не продукує шкідливих іонів у навколишні тканини. Це особливо важливо для запобігання металозу, стану, при якому вивільнення металевих іонів призводить до запальних реакцій та патологічних станів, пов'язаних із імплантованим матеріалом. Крім того, тантал сприяє адгезії білків, що важливо для початкової стадії інтеграції імплантату з навколишніми тканинами [14].

Саме це робить його першим вибором у якості покриття для різних імплантатів, які використовуються в ортопедичній та спинальній хірургії, а також для виготовлення кардіостимуляторів та нейростимуляторів [15].

Тому є вельми необхідним пошук нових шляхів в герніопластиці, а саме нанесення різних видів покриттів, зокрема танталу та його похідних, що є біосумісними, мають протизапальні властивості та не викликають післяопераційного спайкового процесу. Однак, проблема попередження розвитку ускладнень після застосування поліпропіленових хірургічних сіток при герніопластиці залишається актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана у межах науково - дослідної роботи кафедри хірургії №1 Харківського національного медичного університету на тему: «Розробка хірургічних технологій діагностики і лікування захворювань та травм органів травної системи із використанням гібридних (відкритих та мініінвазивних) операцій, номер державної реєстрації 0119U002909. Дисертант був виконавцем зазначеної теми. Тема дисертації була затверджена на засіданні Вченої ради Харківського національного медичного університету (протокол № 9 від 15 жовтня 2020 року).

Мета дослідження: підвищення ефективності хірургічного втручання, попередження ускладнень та спайкоутворення у хірургічних пацієнтів на підставі біохімічного та морфологічного обґрунтування застосування хірургічної сітки з нанесенням покриттів на основі танталу та

його похідних (оксиду танталу та нітриду танталу) за допомогою методу реактивного магнетронного нанесення.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені наступні **завдання дослідження:**

1. Вивчити інтенсивність процесів генерації активних форм кисню лейкоцитами, оцінити їхню життєдіяльність та види клітинної смерті лейкоцитів периферичної крові у експериментальних тварин при використанні хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних (оксиду танталу та нітриду танталу);

2. Дослідити інтенсивність ліпідної пероксидації в організмі експериментальних тварин за вмістом біохімічного маркера 8-ізопростану в крові та стан антиоксидантної системи за визначенням активності СОДІ та каталази в крові щурів контрольних груп та після імплантації хірургічних сіток із різними видами покриттів на основі танталу та його похідних;

3. Визначити вміст в крові експериментальних тварин білків «гострої фази», а саме С-реактивного білку, гаптоглобіну, церулоплазміну та сіроглікоїдів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних;

4. Дослідити прояви запального процесу шляхом визначення прозапальних цитокінів, зокрема інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-6 в крові щурів контрольних груп та після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних;

5. Довести морфологічну ефективність застосування хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних.

6. Обґрунтувати зі застосуванням біохімічних маркерів та морфологічного дослідження ефективність використання покриттів на основі танталу та його похідних у хірургічній практиці.

Об'єкт дослідження: місцеві та системні реакції організму на імплантацію хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних (оксиду танталу та нітриду танталу).

Предмет дослідження: особливості процесів генерації активних форм кисню лейкоцитами крові, їхньої життєдіяльності та види клітинної смерті лейкоцитів, біохімічні показники ліпідної пероксидації, маркери стану антиоксидантної системи, прозапальні цитокіни, білки «гострої фази», морфологічні особливості передньої черевної стінки щурів з ділянки проведеного оперативного втручання.

Методи дослідження: клініко-лабораторні методи, метод проточної цитофлюорометрії, спектрофотометричні, імуноферментні, морфологічні (гістологічні, імуногістохімічні та морфометричні), математико - статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше на щурах популяції WAG було застосовано нанесення покриттів на основі танталу, оксиду та нітриду танталу за допомогою методу реактивного магнетронного розпилення на хірургічні сітки, що використовуються при проведенні герніопластики.

За даними комплексного та порівняльного аналізу біохімічних маркерів оксидативного стресу, АОС, генерації АФК, видів клітинної смерті лейкоцитів, білків «гострої фази» та морфологічного дослідження було обґрунтовано застосування в хірургічній практиці сіток з покриттям на основі танталу та оксиду танталу. Вперше проведено визначення інтенсивності генерації активних форм кисню та видів клітинної смерті лейкоцитів. Встановлено, що застосування покриттів на основі танталу та оксиду танталу викликають незначну інтенсифікацію АФК та апоптоз/некроз лейкоцитів у порівнянні з покриттям на основі нітриду танталу та застосування хірургічних сіток без покриття.

Вперше було доведено інтенсивність ліпідної пероксидації за вмістом 8-ізопростану в крові та стан антиоксидантної системи за вмістом

церулоплазміну, та активності СОД 1 та каталазів крові експериментальних тварин після проведення хірургічного втручання зі застосуванням хірургічних сіток із різними видами покриттів у порівнянні зі щурами контрольних груп (без імплантації сіток та з імплантацією хірургічної сітки без покриття).

Показано, що застосування покриттів на основі танталу та оксиду танталу сприяють нормалізації основного показника розвитку оксидативного стресу - 8-ізопростану, та демонструють інгібування перекисного окислення ліпідів у порівнянні з покриттям на основі нітриду танталу та хірургічних сіток без покриття.

Уточнено існуючі наукові дані щодо визначення в крові білків гострої фази, зокрема СРБ, церулоплазміну, гаптоглобіну та сіроглікоїдів після імплантації хірургічної сітки з покриттям на основі танталу та його похідних. Доведено, що поліпропіленові хірургічні сітки, покриті танталом і оксидом танталу, значно зменшують запальну реакцію порівняно з сітками без покриття та сітками з покриттям нітридом танталу. Це підтверджується нижчими рівнями ключових маркерів запалення, що свідчить про кращу біосумісність і протизапальну дію покриттів з танталу та оксиду танталу.

Виявлено прояви запального процесу шляхом визначення вмісту прозапальних інтерлейкінів, а саме ІЛ-1 β та ІЛ-6, в крові експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі нітриду танталу та без покриття у порівнянні з хірургічними сітками з покриттям на основі танталу та оксиду танталу.

Уточнені дані літератури щодо морфологічних особливостей передньої черевної стінки у щурів популяції WAG.

Уперше було проведено комплексне морфологічне дослідження передньої черевної стінки щурів з ділянки імплантації хірургічної сітки без покриття, з покриттям на основі танталу та його похідних (оксиду танталу та нітриду танталу) з подальшим проведенням порівняльного аналізу

одержаних результатів. Уперше доведено, що хірургічні сітки на основі танталу та оксиду танталу порівняно з хірургічними сітками на основі нітриду танталу призводять до органотипового загоєння рани; зменшують ступінь вираженості гемодинамічних та запальних змін у дермі, гіподермі, шарах м'язової та сполучної тканини; зменшують ступінь вираженості альтеративних змін м'язових волокон шару м'язової тканини; стимулюють ангиогенез, активізують процеси проліферації та пригноблюють процеси апоптозу в грануляційній тканині, що обростає хірургічну сітку та вростає в її отвори, що, відповідно, стимулює її ріст та дозрівання; попереджають розвиток спайкового процесу.

Практичне значення отриманих результатів

Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням в області герніопластики. Проведене дослідження поглиблює сучасні уявлення про біохімічні та патофізіологічні механізми розвитку спайкового процесу після імплантації хірургічних сіток з різними видами покриттів, а саме ролі оксидативного стресу, фіброзу, порушень стану оксидантно - антиоксидантної системи, генерації АФК та видів клітинної смерті лейкоцитів крові. Обґрунтовано доцільність визначення вмісту 8-ізопростану, прозапальних цитокінів та білків «гострої фази» в крові з метою прогнозування розвитку запального процесу у місці імплантації.

Отримані результати впроваджено у навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету (м. Харків, Україна), кафедри біохімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (м. Вінниця, Україна), кафедри біологічної хімії та ветеринарної медицини Національного фармацевтичного університету (м. Харків, Україна), кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна) та у науково-практичну роботу ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім В.Т. Зайцева НАМН України» (м. Харків,

Україна). Отримано свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір «8-Ізопростан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних» № 125381 від 4 квітня 2024 року.

Особистий внесок здобувача

Дисертація є самостійною науково-дослідною роботою. Разом із науковим керівником автором було визначено актуальну проблему наукового дослідження, сформовано тему дисертаційної роботи, визначено концепцію роботи, мету, завдання, предмет та об'єкт дослідження. Автором було розроблено дизайн експерименту, визначено методичні підходи, зазначено методи дослідження та проведено патентно - інформаційний пошук. Особистий внесок здобувача полягає у проведенні хірургічних втручань. Здобувач особисто проводив визначення вмісту та активності біохімічних показників імуноферментним та спектрофотометричним методами.

За консультативною допомогою доцента Ткаченко Антона Сергійовича (Науково - дослідний інститут експериментальної та клінічної медицини ХНМУ) було проведено визначення генерації активних форм кисню лейкоцитами крові та види клітинної смерті лейкоцитів.

Морфологічні дослідження були проведені на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету.

Дисертант сформулював основні положення та висновки роботи. Особисто написав всі розділи дисертаційної роботи. У дисертації не використовували ідей або концепції, які належать співавторам опублікованих наукових праць. Запозичення результатів досліджень в інших авторів відсутні.

Апробація результатів роботи

Матеріали дисертацій повідомлені та обговорені на: Науково - практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання

експериментальної та клінічної біохімії» (м. Харків, Україна, 1 жовтня 2021 р.), Фестивалі молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 24-26 січня 2022 р.), Фестивалі молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 13-15 лютого 2023 р.), VI науково - практичній конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, Україна, 16 листопада 2023 р.), Міжнародній науково-практичній конференції «Стовбурові клітини для моделювання та лікування захворювань» (м. Краків, Польща, 29-30 листопада 2023 р.), Фестивалі молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), I Міжнародній науково-практичній онлайн конференції «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної біохімії та молекулярної біології» (м. Харків, Україна, 7 березня 2024 р.).

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт (з них 5 статей у фахових наукових журналах України, рекомендованих МОН України категорії В). Результати роботи також представлені у 8 тезах в збірниках матеріалів наукових конференцій України та інших країн, оглядова стаття у зарубіжному науковому журналі та отримано Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір.

Структура та обсяг роботи

Матеріали роботи презентовані на 223 сторінках машинописного тексту та складаються з анотації, вступу, аналітичного огляду літератури, матеріалів та методів дослідження та 3 розділів власних досліджень, обговорення та узагальнення отриманих результатів, практичних рекомендацій, переліку використаних джерел літератури, що включає 206 джерела (з них 194 – латиницею, 12 - кирилицею), що займають 28 сторінок та додатків на 11 сторінки. Дисертація включає 10 таблиць та 45 рисунків.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ТАНТАЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ У МЕДИЧНІЙ ПРАКТИЦІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Світовий досвід лікування пахових гриж та наявні проблеми герніопластики

Лікування пахової грижі є одним з найбільш розповсюджених хірургічних втручань у світі. Понад 20 млн пацієнтів щорічно виконують оперативне втручання з приводу даної проблематики. Хірургічне лікування є успішним у більшості випадків, але рецидиви та гнійно-септичні процеси вимагають повторних операцій у 10–15 %, і тривала втрата працездатності через хронічний біль (біль триває більше 3 місяців) виникає у 10–12 % пацієнтів [16]. Приблизно у 1–3 % пацієнтів спостерігається важка форма хронічного болю. Це має негативний вплив у всьому світі на здоров'я, якість життя та працездатність населення, що звичайно впливає на економічні видатки кожної країни.

На даний час лікування пахової грижі у світі не стандартизовано. Три товариства спеціалістів із лікування пахових гриж окремо опублікували рекомендації, спрямовані як на покращення лікування, так і на удосконалення навичок хірургів, які займаються лікуванням пахових гриж. У 2009 році Європейське товариство герніологів (EHS) опублікувало рекомендації, які охоплюють усі аспекти лікування пахової грижі у дорослих пацієнтів. Рекомендації EHS були оновлені в 2014 [17]. Міжнародне товариство ендогрижі (IEHS) опублікувало рекомендації в 2011 році, що охоплюють лапароендоскопічні методи лікування пахової грижі. У 2013 році Європейська асоціація ендоскопічної хірургії (EAES) опублікувала консенсусний документ, присвячений аспектам лапароскопічного лікування пахових гриж [18]. Ці три товариства почали

співпрацювати з 2014 року, дійшовши до висновку, що це необхідно для розробки універсального набору методичних рекомендацій щодо лікування пахових гриж [19].

«Комплексні рекомендації щодо лікування пахової грижі» було обрано як назва спільних зусиль. Розпочався рух за розробку найсучаснішої серії рекомендацій, розроблених експертами з лікування грижі для спеціалістів всього світу. Європейський товариства — EHS, IENS та EAES — запросили до участі наукові товариства з усього світу, які зосереджуються на лікуванні пахових гриж [20]. Саме з цього почалася міжнародна плідна співпраця, від якої виграли усі, та, в першу чергу, пацієнти.

Перші операції з приводу пахової грижі було виконано наприкінці шістнадцятого століття. Вони передбачали вправлення грижового мішка, резекцію та зміцнення задньої стінки пахового каналу шляхом зближення його м'язово-фасціального компоненту. Згодом багато варіантів пластики грижі були введені в роботу [21]. Використання протезного матеріалу почалося у восьмидесятих роках ХХ століття, спочатку лише у літніх пацієнтів з рецидивуючими паховими грижами [22]. Сприятливі результати після імплантації хірургічних сіток заохочували впровадження їхньої імплантації пацієнтам більш молодшого віку. На даний час, більшість хірургів світу виконує виключно сітчасту пластику пахових гриж [23].

У Данії, згідно статистики лікування пахових гриж, наразі використання поліпропіленових хірургічних сіток спостерігається у 98 % випадків. У Швеції використання поліпропіленових хірургічних сіток приблизно становить 99 % [24]. На початку 1980-х років вперше були виконані малоінвазивні методики вправлення пахової грижі. Також були розроблені лапароскопічні трансабдомінальні преперитонеальні (ТАРР) і повністю екстраперитонеальні (ТЕР) ендоскопічні методи, які разом називають «лапароендоскопічна хірургія» [25]. Результати та

популярність методу використання поліпропіленових хірургічних сіток наполегливо свідчить про те, що це «золотий стандарт» лікування пахових гриж. Крім того, це призводить до великих варіацій у лікуванні через культурні відмінності серед хірургів, різні системи відшкодування та відмінності в ресурсах і матеріально-технічному забезпеченні. І на цьому факті слід зупинитися і поговорити докладніше.

Пластика грижі залежна від технічної бази та індивідуальних можливостей клінік та країн. Можливе використання хірургічної сітки коливається від 10 до 15 % у країнах з низьким економічним показником, і доходить до 99 % у країн з найвищим економічним індексом [26]. Зараз найбільше використовується відкрита сітчаста репарація (в основному репарація за Ліхтенштейном) [27]. Розрізняють грижових хірургів-спеціалістів у спеціалізованих лікарнях, які проводять лікування без сітки, особливо у пацієнтів із низьким профілем ризику рецидиву. Використання лапароскопічного хірургічного методу у світі коливається від нуля до 65 %, і тільки в країнах із високим рівнем економічного розвитку. Середнє використання лапароскопічного методу лікування пахових гриж в країнах з високим економічним показником невідоме, за винятком деяких прикладів, таких як Австралія (61 %), Швейцарія (48 %), Нідерланди (48%) і Швеція (30 %) [28].

Модифікація методів хірургічного доступу при лікуванні пахових гриж не усуває можливості розвитку спайкового процесу у післяопераційному періоді. Наявність спайкового процесу у місці імплантації є одним із найпоширеніших прикладів повторного хірургічного втручання пацієнтам, яким була виконана первинна пластика. За даними науковців, реконструкція та пластика пахової грижі супроводжується подразненням товстої кишки, порушує баланс між коагуляцією та фібринолізом, тим самим активує коагуляцію та посилює вироблення тромбіну, який перетворює фібриноген у фібрин [29]. Відкладення фібрину призводить до утворення матриксу, до якого

фібробласти можуть прилипати та виробляти позаклітинний матрикс. Без інгібування проферментів матриксної металопротеїнази може виникнути фібриноліз шляхом перетворення плазміногену в плазмін, і матрикс може бути деградований [30]. Однак інгібітори металопротеїнази, які часто присутні після хірургічних втручань, запобігають деградації позаклітинного матриксу. Тканинний активатор плазміногену, який експресується у вигляді серинової протеази на мезотеліальних клітинах, ендотеліальних клітинах і макрофагах, відповідає за більшу частину активності, що активує плазміноген. Інгібітор активації плазміногену, особливо глікопротеїнова форма, інгібує тканинний активатор плазміногену і тому може схилити терези в бік відкладення фібрину. Було виявлено, що спайки містять високі концентрації інгібітора, що активує плазміноген, що свідчить про те, що він відіграє ключову роль у формуванні спайок та їх персистенції після операції [31].

За даними сучасної наукової літератури, результати вивільнення медіаторів запалення після розміщення синтетичної сітки були оцінені доктором Дженніфер Асаріас, для з'ясування молекулярних механізмів, що лежать в основі реакції на стороннє тіло після імплантації [32,33]. Експресію генів, дотичних до загоєння ран, ангіогенезу та ремоделювання тканин після імплантації трьох макропористих сіток, вивчали на моделі дефекту черевної стінки щурів. Поліпропілен і поліестер викликали більш значну та стійку запальну реакцію, ніж політетрафторетилен, через 7 й 90 днів після операції, включаючи активацію таких генів, як хемоаттрактант CXCL2, MMP 3 і MMP 9. У той же час, дослідження американського вченого Шона Оренштайна продемонструвало, що тучні клітини та продукти, що вивільняються з них, включаючи гістамін і цитокіни, мають вирішальне значення в реакціях тканин на імплантовані синтетичні сітки з мікропористого поліпропілену середньої щільності, легкого макропористого поліпропілену і макропористого поліестеру [34]. Також було показано, що блокування дегрануляції тучних клітин зменшує

запалення і фіброз, що свідчить про можливу мішень для протиспайкової терапії у майбутніх дослідженнях.

Утворення спайок вже давно є визнаною хірургічною проблемою після використання макропористої синтетичної сітки, що не розсмоктується. Імпантована синтетична сітка викликає реакцію організму на стороннє тіло, що призводить до розвитку спайкового процесу. Ключовими факторами, що визначають реакцію організму на імпантовану синтетичну сітку, є поглинаюча здатність сітки, розмір пор (відстань між фібрилами сітки), механічне переплетіння (монофіламентне або мультифіламентне), а також її щільність та вага. Композиції з розсмоктуючої та нерозсмоктуючої сітки були розроблені з метою зменшення кількості постійного стороннього матеріалу в організмі. Питання розміру пор також розглядалося багатьма науковцями [35]. Вчені зазначали, що сітка з макропорами, визначена як пори більше 75 мкм, дозволяє клітинам (включаючи імунні клітини) проникати в сітку, відкладати колаген і проникати у судини через ангиогенез [36]. При застосуванні сітки з мікропорами (менше 10 нм) припустили, що вони сприяють меншому припливу клітин або ангиогенних компонентів, на відміну від макропористих сіток.

Вчений Мартін Ван Рітт із колегами зробив спроби створити синтетичну сітку, яка мінімізує утворення спайок і викликає меншу реакцію організму на стороннє тіло [38]. Однією з таких конструкцій є полегшений поліпропілен, який містить поліпропілен щільністю менше 35 г/м². Менша щільність збільшує податливість легких сіток, що більш нагадує податливість нативної черевної стінки. Уолтером Коббом було доведено, що міцність легкої сітки залишається стабільною з часом [39,40]. Дослідження продемонстрували, що регенерація тканин при імпантації легкого поліпропілену більша, ніж при використанні важкого поліпропілену, і вважається, що це пов'язано з нижчою щільністю. Синтетичні сітки також були розроблені з різними розмірами пор для

мінімізації спайок. Американський вчений Brent Метьюз використовував шкалу Даймонда для оцінки площі поверхні адгезії та порівняв мікропори розширеної політетрафторетиленової сітки і макропори поліпропіленової сітки [41]. Результати дослідження продемонстрували, що мікропориста сітка призвела до значно меншої кількості спайок і була мезотелізована більшою мірою, ніж макропориста сітка. Американська вчена Лора Мелман із командою науковців проводила гістологічну оцінку важкому поліпропілену на моделі вентральної грижі у експериментальних шурів. Отримані дані показали, що щільні сальникові спайки та колагенові волокна через 56 днів після імплантації охоплювали окремі сітчасті волокна. Також, у дослідженні було з'ясовано, що рівномірно розподілений колаген проникає у проміжки політетрафторетиленової сітки, і скануючі електронні мікрофотографії показали, що поверхня очеревини була нерівною у порівнянні з гладкою поверхнею політетрафторетиленової сітки [42].

Німецький вчений Матіас Лашке порівняв вікрилову сітку, що розсмоктується з іншими поліпропіленовими сітками, що не розсмоктовуються, щодо запальної відповіді та ангіогенезу, що виникли протягом 14 днів на моделі дорсальної шкірної складки [43]. Вікрилові хірургічні сітки провокували запальні реакції організму, що призводило до виникнення запального клітинного інфільтрату, а також до утворення щільно васкуляризованої грануляційної тканини, яка зрештою призводила до її слабкості при експлантації.

Вченим Вольфгангом Гертнером у рамках експерименту були виконані спроби покрити синтетичну сітку біосумісними речовинами, з метою зменшення утворення спайок. У дослідженні, в якому оцінювали дев'ять синтетичних сіток, чотири біопротезних сітки та одну біорозсмоктувальну сітку, біопротезні сітки та сітки з полігліколю/поліглактину призводили до утворення спайок, що покривали меншу площу поверхні, порівняно з синтетичними сітками без покриття

через 7 днів після імплантації [44,45]. Визначено, що біорезорбуюче покриття, спрямоване на зменшення утворення спайок, обмежує утворення спайок, оскільки матеріали з покриттям мали спайки, що охоплювали меншу площу, ніж синтетичні сітки без покриття.

Вже у XXI сторіччі міжнародні фармацевтичні корпорації спільно з командами науковців намагалися запобігти утворенню спайок шляхом встановлення фізичних бар'єрів між хірургічною сіткою та очеревиною [46,47]. Після проведених експериментів, Управлінням з контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів США були ухвалені два нових прогресивних продукти: протиспайкова бар'єрна плівка «Seprafilm» (Genzyme Corporation, США), яка була утворена з карбоксиметилцелюлози та гіалуронової кислоти, і протиспайкова мембрана «Interceed» (Johnson & Johnson, Сомервіль, США) із регенованої целюлози. Плівка «Seprafilm» продемонструвала чудову ефективність у зменшенні адгезії на багатьох експериментальних тваринах [48]. Хоч вона не впливає безпосередньо на фібринолітичну систему, натомість її фізичні бар'єрні властивості забезпечують антиадгезійний ефект. Протиспайкова мембрана «Interceed» повністю піддається біологічному розсмоктуванню після імплантації, але дані, отримані під час експериментів, не демонструють стійкої переваги при зменшенні адгезії у порівнянні із плівкою «Seprafilm» [49].

Китайський вчений Сіньюе Лу дослідив механізми деградації поліпропіленових сітчастих імплантатів у пацієнтів після герніопластики та провів аналіз багатофакторних зв'язків між змінами матеріалу сітки після повторних хірургічних втручань з-приводу розвитку запального та спайкового процесів у місці імплантації [50].

Зокрема, він відмітив деградацію поліпропіленових сіток, яка була представлена окисленням поверхні, її кристалічності та зміни механічних властивостей. Він довів, що розвиток запального процесу після імплантації та прогресування інфекційного процесу були значущими

факторами, що впливали на зміни жорсткості сітки та кристалічності поліпропілену.

Команда науковців під керівництвом китайського вченого Сяофея Вана у своєму дослідженні використовували шар еластичного поліуретанового гелю з властивостями поглинання АФК і вираженими протизапальними властивостями, який був нанесений на поверхню поліпропіленової хірургічної сітки шляхом ультрафіолетової фотополімеризації. Даний гелевий шар був здатний поглинати понад 90 % вільних радикалів і пригнічувати внутрішньоклітинні АФК на 75 % від загальної кількості. Експеримент *in vitro* показав, що поліуретановий гель може пригнічувати внутрішньоклітинні АФК, інгібувати адгезію макрофагів і пригнічувати запалення порівняно з використанням поліпропіленової хірургічної сітки без покриття [51].

Ірландський вчений Кілліан Кленсі вивчав системні та аутоімунні ефекти після імплантації поліпропіленової хірургічної сітки. Було визначено, що організм після імплантації хірургічної сітки ініціює гостру клітинну відповідь. Він довів, що вміст прозапальних цитокінів, таких як IL-1b та IL-6, зростає у кровообігу після імплантації сітки, але вони повертаються до норми через 7-10 днів після операції. Автор також відмітив ймовірний розвиток окислювальної деградації імплантованої сітки, але не знайшов жодних доказів системної абсорбції матеріалу [52].

Німецький лікар Юліус Похгаммер визначав вміст С - реактивного білку на ранніх етапах післяопераційного періоду для попередження виникнення інфекційних ускладнень у місці імплантації хірургічної сітки. Він відмічав, що максимальний вміст С - реактивного білку в крові пацієнтів був отриманий на 5 добу після оперативного втручання. Однак, у 13 % пацієнтів від загальної кількості прооперованих з приводу грижі, на 12-13 добу відмічався розвиток запального процесу у місці імплантації, який супроводжувався інфекційним ускладненням зі збереженням високих показників СРБ у сироватці крові пацієнтів [53].

Китайський вчений Мінган Ху вивчав концентрації окисно-відновної пари перекису водню (H_2O_2) і кисню (O_2), і як вони можуть сприяти або уповільнювати прогресування та тривалість процесу загоєння рани після герніопластики. Вченим зазначено, що використання двокомпонентної мембрани з наноферментами гематиту здатно зменшувати шкідливий вплив перекису водню, прискорювати його перетворення до O_2 , тим самим довів подібність дії мембрани і каталази [54].

1.2 Морфологічні дослідження при застосуванні сітчастих імплантів

Застосування поліпропіленових сітчастих імплантів включає відкриті хірургічні або лапароскопічні оперативні втручання у різних зонах, зокрема реконструкцію грудної клітини, корекцію пахової грижі та гриж стравохідного отвору діафрагми [55].

Біологічні реакції, що розвиваються у місці імплантації хірургічних сіток, вимагають послідовної та детальної морфологічної оцінки, яка має вирішальне значення для визначення біосумісності імпланту і його протизапальних властивостей. Проте, незалежно від виду покриття, обставин та зони імплантації, мета визначення біосумісності принципово не відрізняються [56].

Морфологічне дослідження відіграє ключову роль в оцінці біологічних реакцій на імпланти, характеризує та кількісно оцінює загальний стан тканин у місці імплантації. Незалежно від техніки імплантації сітки (відкритий доступ або лапароскопічний) чи місця (пахова, абдомінальна, передочеревинна, підшкірна), є особливі ознаки, які слід оцінити [57].

Специфічні параметри, важливі для патоморфологічної оцінки, включають наступні ступінь і характеристику [58]:

- фіброз, який може включати інтерстиціальний/диссекційний фіброз і наявність фіброзної капсули;

- запалення, що включає кількісний та клітинний склад і розподіл, видиму відстань від матеріалу/тканини;
- ступінь і склад вrostання тканини, зокрема в пористі імпланти. Це може включати фібробласти, колагенові волокна, кровоносні судини, адипоцити та запальні клітини;
- дегенеративні або інші зміни в періімплантатній тканині, що призводить до некрозу, васкуляризації, жирової інфільтрації, мінералізації та кісткової метаплазії;
- специфічні параметри матеріалу імпланту, такі як цілісність, фрагментація, наявність уламків і розташування залишків пошкодженого матеріалу.

Сучасний гістопатологічний аналіз покладається на загальне фарбування гематоксиліном-еозином (H&E) при оцінці клітинних і тканинних відповідей, а також на колагенспецифічні фарбування, такі як трихром Массона (MT), які наразі не є необхідними, але можуть бути корисними допоміжними засобами для виділення фіброзпроліферативних клітин при хронічних запальних процесах [59]. Непряме визначення розміру та розташування колагенових волокон можна отримати шляхом дослідження зрізів, пофарбованих пікросиріусом червоним (PSR), і це може допомогти в інтерпретації хронізації та зрілості сполучної тканини у зоні імплантації поліпропіленових хірургічних сіток [60]. Товсті волокна відповідають більш зрілому колагену, як правило, колаген типу I забарвлюється в помаранчево-червоний колір під поляризованим світлом, тоді як тонкі волокна, що відповідають менш зрілому колагену, як правило, типу III, забарвлюються в зелений колір. Імуногістохімічне фарбування може надати інформацію про тип колагенової відповіді (наприклад, колаген типу I і III) або клітинної відповіді (наприклад, CD68 для макрофагів, CD31 для ендотелію та актин гладкої мускулатури для міофібробластів). Також може бути проведена оцінка клітинної

проліферації та клітинного апоптозу в зоні імплантації хірургічної сітки (наприклад, визначення Ki67 і TUNEL відповідно) [61].

На даний час, у світі немає єдиної системи оцінки результатів імплантації, яка б однаково застосовувалася до всіх типів сітчастих імплантів і відповідала б на всі запитання, що виникають під час розробки імпланта та доклінічної оцінки. Основною метою визначення реакцій тканин, залишається комплексна морфологічна оцінка стану тканин, що розташовані поряд із імплантованими хірургічними сітками. Гістологічне дослідження проводиться за допомогою напівкількісного аналізу, відповідно до нормативних вказівок (ISO10993-6) [62].

Що стосується специфічних реакцій організму у відповідь на хірургічне втручання та імплантацію стороннього тіла, запалення є важливим параметром, і його оцінка повинна включати як загальний ступінь інфільтрації, так і кількісну оцінку клітин (нейтрофілів, макрофагів і багатоядерних гігантських клітин) [63]. Відносне розташування запальних інфільтратів також може надати важливу інформацію щодо диференціальних реакцій на різні компоненти хірургічних сіток і можливості випадкового, пов'язаного з хірургічним втручанням, запалення (після розрізу/розриву м'язових тканин) [64]. Додаткові параметри, пов'язані з імплантатом, особливо важливі для визначення інтеграції та біосумісності імплантату. До них відноситься неоваскуляризація, як її загальний ступінь, так і розташування всередині та навколо імплантату, а також наявність фібробластів і відкладення позаклітинного матриксу (зокрема колагену). Може бути корисним відокремлення клітинного/фібробластичного і матричного/колагенового компоненту фіброзної відповіді, і абсолютна та відносна їх кількість може змінюватися у результаті розвитку запального процесу після імплантації [65].

За даними сучасної наукової літератури відомо, що у поєднанні з оцінкою фіброплазії/фіброзу при морфологічному дослідженні також

важливо визначати утворення рубцевої тканини [66]. Враховуючи частий розвиток процесу рубцювання тканини, таку оцінку слід проводити з обережністю та розглядати як макроскопічні ознаки (наприклад, неправильний вигляд і звуження), так і мікроскопічні (рясна, щільна, зріла та неупорядкована колагенова тканина). Патоморфологічна оцінка повинна включати наявність асоційованого з імплантатом некрозу, білкової ексудації та мінералізації. За даними науковців, жирову інфільтрацію перитонеальних імплантатів слід диференціювати від відкладень сальникової фіброзно-жирової тканини, яка може імплантуватися на вісцеральну поверхню після утворення спайок *in vivo*. Некроз і мінералізація жиру можуть виникнути після випадкової травми тканини під час імплантації, і це слід диференціювати від мінералізації сітчастого імплантату або некрозу, викликаного імплантатом [67,68]. Поліпропіленові волокна, які не біорозсмоктуються, морфологічно назавжди залишаються помітними. Компоненти імплантату, що розсмоктуються, зазвичай пов'язані з деяким ступенем накопичення запальних клітин, неоваскуляризацією або фіброзом [69]. Однак, після резорбції та останньої стадії ремоделювання імплантати може бути важко остаточно морфологічно ідентифікувати, і їх неможливо відрізнити від сусідніх неімплантованих ділянок. Зазвичай, докази резорбції покриття в імплантатах можуть бути отримані на основі змін цілісності покриття, фарбування та площі поперечного розрізу, а також наявності макрофагів і гігантських клітин уздовж відповідних поверхонь імплантату [70].

За даними наукової літератури відомо, що оцінка відповіді на сітчасті імплантати може бути ускладнена факторами, що виходять за рамки внутрішньої взаємодії тканини та матеріалу. На зміни, наявні в зрізі тканини, може вплинути розмір зразків, а також конкретне місце всередині імплантату (наприклад, відстань від центру імплантату до периферії) [71]. Конкретне анатомічне розташування (наприклад, підшкірний, передочеревинний або внутрішньоочеревинний простір)

також може впливати на здатність клітинних компонентів отримати доступ до імплантату (через пряму міграцію або після васкуляризації). Ятрогенна травма тканини, що виникає під час імплантації, може спричинити морфологічні зміни, наприклад, у м'язовій або жировій тканині, де клітинне пошкодження та некроз провокують фіброз та гранулематозне запалення відповідно [72].

Також, за даними авторів, важливо морфологічно визначати, чи пов'язані ексудація фібрину або розвиток гематом, якщо вони присутні, з видом сітчастого покриття. Такі ускладнення, як серома, інфекційний процес або ідіосинкратична реакція гіперчутливості, завжди слід пов'язувати з видом сітчастого матеріалу імплантату [73]. Те ж саме слід зробити з результатами, пов'язаними з допоміжним, неімплантатним матеріалом, таким як ціаноакрилатний тканинний клей, фіксатори або шовний матеріал для закриття тканин, або шовний матеріал, що біорозсмоктуються. Незалежно від конкретних гістопатологічних методів оцінки, які використовуються, специфічна архітектура деяких класів скаффолдів (структур тканин) може впливати як на підхід до гістопатологічної оцінки, так і на реакцію основних тканин у зоні імплантації (наприклад, на розвиток запального процесу та поділ клітин). Оскільки колаген ацелюляризованих матриць неможливо відрізнити від зрілого колагену макроскопічно, диференціація нового та попередньо існуючого колагену може бути важкою, але її можна здійснити через незначні тинкторіальні відмінності (при фарбуванні Н&Е) між зрілим колагеном і тонким, незрілим, новим колагеном [74]. Пучки колагену імплантату можуть бути товстими, яскраво еозинофільними та безклітинними порівняно з вузькими або аморфними, блідо-рожевими, малоклітинними відкладеннями інтерстиціального колагену [75].

Слід відзначити, що на інфільтративні та запальні реакції тканин також можна вплинути композицією із монофіламенту або поліфіламентного волокна. Наразі, поліпропіленові хірургічні сітки є

найбільш поширеними в світі через характерну їх інертність та біосумісність. Однак, жорсткість сітчастого матеріалу і відсутність здатності до біорозсмоктування призводить до розвитку вторинного запального процесу в зоні імплантації [76].

Таким чином, з даних наукової літератури відомо, що складність і різноманітність видів сітчастих імплантів вимагає послідовної та детальної морфологічної оцінки. Ретельна макроскопічна та мікроскопічна оцінка на моделях експериментальних тварин залежить від гістологічних параметрів, напівкількісних методів оцінки та морфометричних аналізів, які відповідають наявному виду імплантатів з наявним біосумісним покриттям або без нього. Мікроскопічна оцінка завжди фокусується на оцінці біорезорбції, інтеграції/вростання тканини, неоваскуляризації та запалення в зоні імплантації [77, 78].

Зважаючи на дані результати та перспективність напрямку дослідження, в даній роботі нами розглядається можливість застосування поліпропіленових хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних.

1.3 Загальна інформація щодо механічних властивостей та біологічної активності танталу та його похідних

Антибактеріальні властивості танталу та його похідних можна додатково покращити шляхом обробки поверхні, що робить їх ідеальними матеріалами в якості імплантатів, що використовуються у хірургії, ортопедії та стоматології. Тантал є рідкісним перехідним металом (атомний номер 73, молекулярний маса 180,05), що має замало заповідників у природі. При кімнатній температурі тантал є ковким і блискучим синьо-сірим металом з твердістю 6–6,5. Як тугоплавкий метал, тантал має високу температуру плавлення - 3017 °С, вище тільки у

вуглецю, вольфраму, ренію та осмію. Крім того, тантал має ідеальні теплові та електричні характеристики провідності [79]. Хімічні властивості чистого металу танталу відносно активні; тому він в основному існує у вигляді двох типів оксидів: Ta_2O_5 і TaO_5 . Коли тантал піддається впливу повітря або обробляється, поверхня чистого танталу спонтанно утворює стабільний шар оксиду Ta_2O_5 , який не є електропровідним і може протистояти більшості дії сильних кислот і лугів [80].

Матеріал імплантату повинен мати чудові механічні властивості, стійкість до корозії та ідеальну біосумісність. З 40-х років двадцятого століття, тантал широко використовується в пристроях медичної призначеності, таких як кардіостимулятори, штучний хребет, зубні імплантати, штучні суглоби, радіоактивні маркери, сітки для відновлення нервових пучків, стенти для коронарних судин, матеріали для гемостазу та герметики для пульпи зубів [81,82]. Експерименти як *in vivo*, так і *in vitro* показали задовільні результати використання цього матеріалу без розвитку будь-яких явних запальних процесів або алергічних реакцій після використання тантала в якості імплантів. Попередні дослідження підтвердили, що всі типи клітин можуть виживати на поверхні танталу, при фізіологічному розвитку і відповідній морфології. Тому для покриття імплантату часто використовують порошок танталу із допомогою легування іншими матеріалами. Багато досліджень показують, що додавання танталу на поверхню імплантів посилює біологічну активність матеріалу і сприяє відновленню клітин та тканин організму.

Тантал має дуже низьку розчинність при всіх значеннях рН. Відомо, що після імплантації, реакція стороннього тіла активує взаємодію між макрофагами та гігантськими клітинами чужорідного тіла, що згодом призводить до безперервної корозії та утворення продуктів корозії, однак тантал демонструє чудову корозійну стійкість, що зменшує виникнення локального запалення, спричиненого корозією продуктів [83].

З даних наукової літератури відомо, що відмінна корозійна стійкість танталу вказує на чудовий потенціал його застосування в якості матеріалу для кісткового імплантату або біосумісного асептичного покриття для імплантату. Шар оксиду Ta_2O_5 на поверхні танталового матеріалу надає чудову корозійну стійкість, а також покращує адгезію клітин, впливаючи на гідрофобність та електростатичний ефект поверхні. Численні дослідження показали, що гідрофільні поверхні більш сприяють адгезії та проліферації клітин. Тантал є гідрофобним, але його гідрофільність зростає з утворенням Ta_2O_5 , оскільки він тісно пов'язаний з формою кристала Ta_2O_5 [84]. Хоча тантал має задовільну корозійну стійкість і гідрофільну поверхню, деякі його властивості обмежують його широке застосування. Наприклад, модуль пружності твердого танталу (186 ГПа) нижче ніж деяких клінічних матеріалів імплантатів, таких як кобальт-хромовий сплав (210 ГПа) і нержавіючої сталі (230 ГПа), але все одно значно вище ніж у природної кортикальної кістки людини (12–18 ГПа) та губчастої кістки (0,1–0,5 ГПа). Це в кінцевому підсумку призводить до розпушування імплантату [85]. Крім високого модуля пружності, комплекс процесів виготовлення та висока вартість танталу створюють складну проблему застосування танталових імплантатів. Щоб вирішити згадані проблеми, багато дослідницьких груп доклали значних зусиль для поліпшення властивостей танталових матеріалів.

Одним з варіантів вирішення цього питання є додавання інших матеріалів. Наприклад, китайські науковці використовували селективне лазерне плавлення (Selective Laser Sintering, SLS) для приготування Ti-Ta сплавів. Після експерименту сплав з 30 % танталу мав найнижчий модуль пружності і найвищий модуль Юнга, що значно покращують механічні властивості титану [86]. Китайський вчений Цун Куо наносив порошок Ta на підкладку Ti-6Al-4V. Середня пористість поверхні покриття становила приблизно 13 %, а його твердість і модуль пружності були значно знижені порівняно з чистим танталом. Цікаво, що середня пористість покриття

збільшилася з 0,6 % у внутрішньому шарі до 7,6 % у зовнішньому шарі [87]. Модифіковані властивості танталу викликали інтерес до виготовлення композитних покриттів. Двонаправлений фосфат кальцію Ta_2O_5 - композитне покриття, виготовлене на поверхні титану показав задовільні результати. Дослідники також покращили властивості танталових матеріалів шляхом оптимізації структури танталу і процесу його підготовки [88]. Вчені використовували дешевий оксид танталу у порошковому вигляді як сировину, отриману як попередника Ta_2O_5 методом гелевого лиття і виготовили пористий танталовий стент шляхом подальшого електролітичного скорочення. Механічні властивості, такі як міцність ($4.1 \pm 0,4$ МПа) і модуль пружності ($0,14 \pm 0,07$ ГПа) підготовлених стентів з пористого танталу були близькі до губчастої кістки людини (міцність на стиск: 4–12 МПа, модуль пружності: 0,1–0,5 ГПа) [89]. За даними наукової літератури шляхом додавання інших матеріалів або оптимізації структури у процесі приготування танталу можна подолати обмеження, пов'язані із механічними, фізичними та хімічними властивостями танталу, що дозволить розширити його застосування в медичній практиці [90].

Саме Ta_2O_5 , який також широко використовується для приготування покриттів, має задовільну біосумісність. Завдяки відмінній біологічній інертності, тантал здавна вважався цитофільним матеріалом. Однак, у клінічних застосуваннях через механічне зношування частина нанорозмірного матеріалу неминуче видаляється з поверхні імплантату, що може впливати на виживання оточуючих клітин.

Згідно з недавніми дослідженнями щодо використання нанофрагментів танталу (Ta-NP) у кістковій тканині у низькій концентрації (12,5 г/мл) можуть сприяти проліферації остеобластів, тоді як у концентраціях ≥ 25 г/мл, Ta-NP починають знижувати життєздатність клітин [91]. За допомогою набору для підрахунку клітин (ССК-8) було виявлено, що нанофрагменти танталу (Ta-NPs) не виявляють

цитотоксичності і значно посилюють адгезію остеобластів, проліферацію, дозрівання та мінералізацію кісткової тканини. Китайський вчений Као Чжу також повідомляв, що після занурення титану, покритого танталом у фосфатно-сольовий буфер протягом 28 днів лише $<0,2$ мкг/л танталу було вивільнено. Таким чином, можна вважати, що концентрація наночастинок танталу не проявляють характеру збільшення. Крім того, низькі концентрації наночастинок танталу не мають цитотоксичності і можуть навіть підвищувати активність остеобластів [92].

У підсумку, можемо сказати, що тантал має чудову біосумісність, не проявляє цитотоксичну дію у певних концентраціях і є безпечним матеріалом для імплантації в медичній практиці. Як зазначалося раніше, пористий тантал має високий модуль пружності. В той же час низька пористість і висока вартість танталу обмежує його клінічне застосування. В останні роки поява саме пористих танталових матеріалів вирішила ці проблеми. Пористий тантал, також відомий як тантал трабекулярний, є хімічно та електрично нейтральним матеріалом імплантату з пористою поверхнею. Він має високу міцність, стійкість до корозії, гідрофільність і задовільну біосумісність твердого танталу, а також демонструє ідеальну здатність до імплантації завдяки своїй пухкій і пористій структурі. Тому багато дослідників розглядають пористий тантал для клінічного застосування в якості хірургічних, ортопедичних та зубних імплантатів. Тантал може бути отриманий різними методами, які включають традиційні методи приготування, за допомогою: спейсхолдеру, електролітичного відновлення, хімічного осадження з пари, методу порошкової металургії, технології адитивного виробництва, процесу формування лазерної сітки та вибіркового лазерного плавлення [93]. У даний час найбільш поширений пористий тантал (Zimmer, США) має повторюваний додекаедровий масив пір, з'єднаних між собою меншими отворами або порталами, що подібне до людської губчатої кістки. Розмір пор 400-600 мкм, пористість становить 75–80 %. Крім того, формою і

механічними властивостями стента можна керувати, регулюючи форму вуглецевого стента і товщину танталового покриття, яка може відповідати різним вимогам у клінічній практиці [94].

Таким чином, у порівнянні з іншими металевими матеріалами пористий тантал має багато переваг:

1) його модуль пружності близький до модуля пружності нормальної кісткової тканини. Модуль пружності пористого танталу (2–3 ГПа) ближче до губчастої кістки (0,1–0,5 ГПа), ніж у титану (106–115 ГПа), що передбачає мінімізацію ефекту стресу, та запобіганню появи запального процесу;

2) пористість пористого танталу (75 % – 85 %) вища за сплави кобальту, хрому (30 % – 35 %) та титану (40 % – 50 %). Пориста структура тантала, подібна до губчастої кістки, допомагає досягти максимальної інфільтрації тканин і міцного прикріплення, що забезпечує простір для клітинної адгезії та проліферації, захищає фенотип клітини, а також полегшує обмін поживних речовин та васкуляризації, що сприяє інтеграції імплантату та підвищення його стійкості в організмі;

3) високий коефіцієнт тертя і пориста структура танталу може ще більше збільшити тертя між пористим танталом і кістковою тканиною у ортопедичній практиці. Повідомлялося, що тертя пористого танталу становить на 40 % – 75 % вище, ніж у традиційних пористих покриттів, тобто більше сприяє стабільній фіксації імплантатів та покращує тим самим успішність операції;

4) характерна сильна зносостійкість. Згідно попередніх досліджень, порівняно з титаном, швидкість зносу танталового покриття на порядок нижче, що доводить, що тантал має хорошу зносостійкість і міцність, тому є довговічним. Ці чудові механічні властивості роблять пористий тантал ефективним матеріалом, завдяки чому мають значний потенціал для застосування в якості матеріалів для імплантації.

1.4 Біосумісність та антибактеріальні властивості танталу та його похідних

У науковій літературі наявні кілька повідомлень про відносну цитотоксичність або запальний процес у відповідь на імплантацію пористого танталу *in vivo*, результати якого узгоджуються з його задовільною продуктивністю в експериментах *in vitro*. Пористий тантал проявляє ідеальні біологічні властивості та задовільну сумісність з різними типами клітин, оскільки його гідрофільна поверхня є сприятливою для клітинної адгезії і проліферації. У нещодавньому проведеному експерименті голандським вченим Ван Дер Фальк [95,96] виготовлений пористий танталовий каркас показав чудову біосумісність з фібробластами мишей популяції WAG (L929), що сприяло загоєнню післяопераційної рани та відновленню тканин. Японські науковці оцінили роль пористих танталових каркасів в усуненні морфологічних дефектів хряща в зонах, що несуть навантаження. Дослідники використовували пористі танталові каркаси для навантаження стовбурових клітин кісткового мозку та хондроцитів, а потім імплантували їх у дефектні хрящі. Було виявлено, що клітини стромы кісткового мозку (BMSC) і хондроцити добре розвиваються на пористому танталовому каркасі через 16 тижнів після операції, доводячи, що пористий тантал має визначальну роль у сприянні диференціації BMSC в остеобласти [97].

Останнім часом в ортопедії та пластичній хірургії можуть використовувати імплантаційні матеріали, що можуть загрожувати виникненням інфекцій, асоційованих з імплантами. Виникнення імплант-асоційованої інфекції супроводжується больовим та запальним процесами, розхитуванням імплантату, сепсисом та інші наслідками, що призводять до неконтрольованих ускладнень у післяопераційному періоді. Інфекції, асоційовані з імплантатом, викликаються мікроорганізмами,

розташованими на поверхні імплантату, та призводять до уповільненої бактеріємії. Патогенна мікрофлора може змінюватись в залежності від розташування імплантату та стану імунної системи пацієнта. Бактерії колонізують поверхню імплантату у вигляді біоплівки, прикріпленої до поверхні імплантату після інфікування. Біоплівка - це бактеріальна популяція, що складається з бактерій і позаклітинної полімерної речовини (EPS), яку вони виділяють. EPS посилює бактеріальну адгезію до імплантату і підвищує стійкість бактерій до антибіотиків, дезінфікуючих засобів, знижує вроджений, а також адаптивний імунний захист організму [98].

Поява клінічних інфекцій, асоційованих з імплантатом, значно обмежило застосування біоматеріалів; таким чином, антибактеріальні стратегії стали дуже активним полем досліджень для запобігання інфекцій, пов'язаних з використанням імплантату.

За даними наукової літератури, формування біоплівок можна розділити на декілька етапів: 1) початкове прикріплення бактерій; 2) агрегація і накопичення у багатьох шарах клітин; 3) дозрівання біоплівки; 4) відшарування клітини від біоплівки. Науковцями визнано, що формування біоплівки розвивається доволі швидко і може призводити до приєднання *Staphylococcus aureus* до поверхні імплантату протягом 3 днів у стоматологічній практиці. Тому профілактика розвитку інфекційного процесу, утворення біоплівки на початковій стадії імплантації і є ключем до контролю виникнення інфекційного процесу, асоційованим з імплантами. Проводиться профілактика за допомогою системної антибіотикотерапії, що може призвести до порушення імунітету, розвитку мультирезистентності та інших невідомих ризиків [99]. Більшість сучасних дослідників для профілактики розвитку інфекційного процесу обрали антибактеріальні засоби з прогнозованою стабільністю та меншою вартістю. Антибактеріальні агенти також можуть досягати регульованого та контрольованого вивільнення ліків за допомогою координації різних

допоміжних засобів [100]. У наш час тантал та його похідні можна використовувати як хірургічні та зубні імплантати з потенційною клінічною придатністю через їх задовільні механічні та біологічні властивості. Виникнення афільованих інфекцій можна ефективно зменшити завдяки антибактеріальним властивостям використовуваних металів для імплантів, таким чином підвищується рівень успішності імплантації. Проте досі немає консенсусу щодо того, чи має тантал притаманну антибактеріальну дію.

Щодо антибактеріальних властивостей танталу в стані іонів металів, більшість сучасних досліджень зосереджено на експериментах *in vitro*. Найпоширенішою формою танталу є Ta_2O_5 . Крім того, можуть існувати іони танталу у вигляді нітридів. У оксиду та карбонітриду танталу виявлено певні антибактеріальні властивості. Стерильна наноплівка пентоксиду танталу, отримана на поверхні танталової мішені, показала антибактеріальну дію на *E. coli*. Покриття на основі нітриду танталу, про яке повідомляють китайські дослідники, також показав чудову антибактеріальну активність проти змішаних бактерій [101]. Крім того, у науковій літературі повідомлялося, що тантал має чудову антибактеріальну активність щодо *Enterococcus faecalis*. У роботі тантал в іонному стані проявляє задовільну антибактеріальну здатність, механізм якої може бути пов'язаний із спільним або роздільним зусиллям руйнування ферментів, денатурації білків, деградації за типом клітинна стінка/клітинна мембрана та руйнування сигнального шляху [102].

Враховуючи всі описані факти, наукові кола досі суттєво розходяться щодо того, чи має тантал притаманні антибактеріальні властивості. Науковці зробили різні висновки через відмінності методів, показників спостереження та умов. Однак, згідно з представленим оглядом, можна зробити висновок, що тантал може мати певні притаманні антибактеріальні властивості, які не досягли ідеального клінічного стандарту. Пошук інших методів покращення антибактеріальної здатності

тантала все ще необхідний для задоволення потреб його клінічного використання. За даними наукової літератури на поверхню імплантів додають неорганічні антибактеріальні елементи, такі як Ag, Cu, Zn та ряд неметалічних елементів, таких як йод і селен. Неорганічні метали широко використовуються при виготовленні антибактеріальних матеріалів, оскільки мають чудові властивості. Вони можуть пригнічувати розвиток або навіть мають бактерицидну дію, генерують активні форми кисню, втручаються у метаболізм бактерій, руйнують мембрану бактеріальної клітини, впливають на всмоктування поживних речовин, що спричиняє функціональні розлади та денатурацію ферменту. Крім того, для них є характерним незначна цитотоксичність і задовільна біосумісність, що дозволяє їм бути ідеальними неорганічними антибактеріальними елементами [103]. Спосіб формування сплавів з антимікробними властивостями успішно використовуються в багатьох матеріалах, в яких неорганічні антимікробні речовини наносяться на металеві матеріали з чудовою біосумісністю. Це ефективний метод додавання антибактеріальних металевих елементів до тантала і його похідних. Мароканський дослідник Альхусейн поєднав Ti-23Nb-0,7 Ta-2Zr і чистий Cu на скляній підкладці з допомогою магнетронного напилення і отримав тонку плівку TNTZ-Cu (Ti-Nb-TA-ZR-Cu) з вмістом Cu 8,3% [104]. За даними авторів, дана плівка переважає у супереластичності, має високу біосумісність і низький модуль пружності. Попередні дослідження показали, що цей сплав може одержати антибактеріальну здатність через анодування, але його антибактеріальна дія все ще не буде ідеальною. Додавання 8,3 мас. % Cu сприяло значному антибактеріальному ефекту проти кишкової палички. Крім того, вважається, що Cu сприяє біоінтеграції матеріалів імплантатів у попередніх дослідженнях. Інактивація бактерій пов'язана з посиленням фотодинамічним ефектом. Однак при цьому у дослідженні цитотоксичність плівок не оцінювалася. У той же, період японські дослідники отримали сплав Ta-5Cu зі значно

покращеною антибактеріальною дією завдяки зіпканню іскровою плазмою. Експеримент показав, що антибактеріальна активність отриманого сплаву щодо кишкової палички досягла 71,5 %. Місцева кумулятивна концентрація іонів Cu була приблизно 300 мг/л, що підвищувало антибактеріальну активність сплаву, а також викликало незначну цитотоксичність, однак додавання Cu знижувало корозійну та зносостійкість тантала [105].

Все більше дослідників починає зосереджувати свою увагу на антимікробних властивостях тантала шляхом додавання різних речовин, що наділяє імплантати здатністю до пригнічення адгезії бактерій або безпосередньо вбивають бактерії. Таким чином, на даний час методи підвищення антибактеріальних властивостей тантала шляхом додавання неорганічних антибактеріальних агентів поділяються на:

- 1) поверхневе збагачення неорганічними антибактеріальними засобами без внесення шарів;
- 2) шляхом зростання поверхневого оксидного шару та його легування антибактеріальними речовинами;
- 3) шляхом зростання поверхневого шару нітриду та його легування антибактеріальними засобами.

У науковій літературі є відомості про те, що антибактеріальну здатність тантала можна значно покращити шляхом безпосереднього завантаження неорганічних антибактеріальних засобів на танталові субстрати шляхом магнетронного розпилення, анодного окислення та інших методик. Аргентум володіє широким спектром дії та має високоефективну антимікробну здатність, яка може пригнічувати культивування бактерій, грибків і вірусів. Крім того, завдяки множинним антибактеріальним механізмам Ag рідко викликає резистентність до ліків. Однак Ag має також потенційну цитотоксичність в залежності від часу експозиції [106]. Дослідники також наносили іони Ag на поверхню Ti-Ta сплаву шляхом анодного окислення, що показало антибактеріальну дію у

98,5 % проти *Staphylococcus aureus*. Дослідження також показали, що Cu -вмісні покриття на поверхні танталу, одержані магнетронним напиленням мають стійкий і сильний антибактеріальний ефект проти *E. coli* і *Staphylococcus aureus*. Коли час напилення перевищував 5 хвилин, швидкість стерилізації досягав 90 %. Експеримент із вивільненням іонів Cu показав швидке вивільнення в перші 24 години, а потім швидкість вивільнення сповільнилася [107]. Щодо зростання поверхневого оксидного шару та його легування антибактеріальними речовинами, оксиди металів використовуються в різних галузях, таких як харчові технології, косметика та медичне обладнання. Попередні дослідження мають показники, що природна плівка оксиду танталу на поверхні тантала є ключем до біосумісності та корозійної стійкості матеріалу. З цією метою багато дослідників проводили поглиблені дослідження фізико - хімічних властивостей оксиду танталу, виявивши, що покриття з оксиду танталу мають низьку токсичність, високу корозійну стійкість, біосумісність, зносостійкість та володіє антибактеріальними властивостями.

На даний час покриття оксиду танталу можна отримувати різними методами, зокрема за допомогою магнетронного напилення, рідинного осадження, електрохімічного осадження та імпульсного лазерного напилення. Китайський науковець Лі Гуанг провів антибактеріальне тестування та цитотоксичний аналіз підготовленого ним покриття з оксиду танталу. Результати показали, що покриття проявляє антибактеріальну здатність проти грампозитивних та грамнегативних бактерій без проявів цитотоксичності. Серед них, клітини, що виростили на поверхні покриття з оксиду танталу попередньо оброблені, показали більш високу активність [108]. Згодом його дослідницька група замість використання ZnO взяла за основу Cu , і приготували багат шарове композитне покриття Ta_2O_5 , леговане Cu , яке мало здатність вбивати понад 97 % золотистого стафілокока протягом 24 год, при цьому

швидкість антибактеріальної дії збільшується разом із збільшенням вмісту Cu.

Що стосується зростання поверхневого нітридного шару та його легування антибактеріальними засобами, то отримавши нітрид на поверхні танталової мішені, властивості танталу, такі як стійкість до корозії та окислення, також можна покращити, зробивши його захисним покриттям з чудовою продуктивністю та значним потенціалом для медичних застосувань. Покриття TaN в даний час є одним з найбільш досліджених покриттів. Було доведено, що воно має задовільну біосумісність і чудову корозійну стійкість. Китайські дослідники наносили покриття TaN-Ag на матеріали для зубних імплантатів з чистого титану. Тестом було оцінено чутливість поверхні імплантату до бактеріальної адгезії та біосумісність фібробластів ясен людини (HGF) на покритті. Результати показали, що покриття TaN-Ag з найбільшим вмістом Ag (21 %) мали найнижчу виживаність золотистого стафілокока. Крім того, HGF добре зростав на TaN і TaN-Ag, що вказує на те, що покриття TaN-Ag має здатність покращувати антибактеріальні властивості танталових матеріалів разом із сумісними біологічними реакціями. Загалом, покриття з тантал нітриду мають виняткову біосумісність і стабільні хімічні властивості, які можуть ефективно покращити антибіотичну дію у використаних матеріалах для імплантації [109].

За умов проведеного аналізу наукової літератури було визначено, що крім додавання неорганічних антибактеріальних засобів, дослідники також застосовували органічні антибактеріальні агенти до матеріалу імплантату, що забезпечували антибактеріальну дію. Органічні антибактеріальні засоби включають антибіотики, хітозан та антибактеріальні пептиди, які знайшли широке застосування при підготовці антибактеріальних поверхонь великої кількості матеріалів. Антибіотики широко використовуються в клініці, оскільки вони дають відмінні результати і врятували тисячі життів пацієнтів із хірургічним

втручанням; однак проблема резистентності бактерій, стала широко поширеною і викликає занепокоєння. Через спеціально розроблену місцеву систему вивільнення ліків, препарат може залишатися в ефективному антибактеріальному діапазоні протягом тривалого часу і запобігати утворенню біоплівки на ранній стадії і виникненню імплантат-асоційованих інфекцій, спричинених бактеріємією [110]. Певною мірою такий підхід може знизити ризик резистентності до антибіотиків та системної токсичності. Крім того, тантал також досліджується як хіміотерапевтичний препарат. Вчені із США приготували полігідроксиалканоатні (РНА) антибактеріальні покриття шляхом занурення пористого танталу в емульсії РНА [111]. РНА – це тип біополіестеру, який природним чином виробляється мікроорганізмами. Оскільки він демонструє задовільну біосумісність і є нетоксичним, його можна використовувати як систему контрольованого вивільнення ліків. У експерименті його використовували як субстрат для завантаження гентаміцину. Поверхня пористого танталу після термічної обробки лугом показала високу шорсткість і гідрофільність. Антибактеріальні тести також були проведені на внутрішній та зовнішній поверхні покриття. Результати показали антибіотичний ефект, який пригнічує ріст мікроорганізмів.

Таким чином, серед металевих елементів, що можна використовувати задля нанесення на ортопедичні та хірургічні імплантати, тантал та його похідні привернули увагу як біоматеріали нового типу, за рахунок їх потенційного застосування в бактеріальному пригніченні та індукції стовбурових клітин. Перед застосуванням у клінічній медицині його біосумісність і цитотоксичність необхідно оцінити на експериментальній моделі. Ми узагальнили та проаналізували велику кількість статей і зробили висновок, що цитотоксичність танталу та його похідних пов'язана з його концентрацією. У низьких концентраціях тантал та його похідні були біосумісними і майже не мали негативного впливу на

тканинну морфологію, життєздатність і проліферацію клітин. Відповідно до наведеної вище передумови, антибактеріальні властивості танталу та його похідних можуть зробити його конкурентним кандидатом для біомедичних застосувань.

Також необхідно зазначити потенційні антибактеріальні й протизапальні властивості тантала та його похідних. Багато вчених проаналізували різноманітні стратегії та конструкції обробки поверхні для покращення характеристик танталу та його похідних, які використовуються для антибактеріальної дії та передбачення запального та гнійно-септичного процесів. Ці стратегії включають піскоструминну обробку, термічну обробку лугом, анодування, функціоналізацію поверхні для покращення протимікробної дії танталу та його похідних, а також введення неорганічних і органічних антибактеріальних засобів для посилення антибактеріальної здатності. Основна проблема, з якою стикаються дослідники, пов'язана зі складним процесом підготовки та притаманними дефектами поверхневої обробки, наприклад, низька міцність зчеплення покриття з імплантатом та проблема вивільнення препарату. Щоб вирішити ці проблеми, дослідження повинні бути присвячені стратегії обробки поверхні імплантату танталом та його похідних за для мінімізації можливості виникнення запальних процесів та в подальшому процесів спайкоутворення.

Незважаючи на деякі обмеження, тантал і його похідні, а саме оксид танталу та нітрид танталу, мають чудову біосумісність та антибактеріальні властивості, і потребують подальшого вивчення щодо широкого використання у клінічній практиці. Оскільки виникнення вторинного запального процесу після імплантації хірургічних сіток залишається актуальною проблемою, в подальшому планується вивчення в умовах експерименту доцільності застосування покриттів на основі танталу та його похідних для попередження даної патології. Актуальність проблеми створення хірургічної сітки, яка мінімізує можливість

запального процесу після імплантації, виникнення спайкового процесу у місці імплантації та попереджає необхідність повторного хірургічного втручання, й досі залишається вартої уваги. Створення універсальної хірургічної сітки з біосумісним покриттям може стати кроком вперед у прагненні прискорити процес реконвалесценції у післяопераційному періоді.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Дизайн експерименту

Робота виконана у 2020 - 2024 рр. на базі кафедр біологічної хімії (завідувач - проф. О.А. Наконечна) та кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна (завідувач - проф. М.С. Мирошніченко) Харківського національного медичного університету, Експериментальної біологічної клініки Харківського національного медичного університету (керівник - О.В. Марченко), Науково - дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Харківського національного медичного університету (в.о. директора - ст.н.с. В.Ю. Прокопюк, угода №9 від 7 жовтня 2021 року), Навчально-наукового інституту «Фізико-технічний факультет» ХНУ ім. В.Н. Каразіна (директор - доц. П.Е. Кузнецов, договір №205/11-20/н від 11 листопада 2020 року), ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України» м. Харкова (директор - проф. В.В. Бойко, договір №205/11-20/н від 11 листопада 2020 року).

Відповідно до завдань роботи експериментальне дослідження проводилося на 40 щурах-самцях популяції WAG, віком 5-6 місяців та масою 220 ± 20 г, отриманих з Експериментальної біологічної клініки Харківського національного медичного університету. Після акліматизації, яка тривала 21 день, методом випадкової вибірки експериментальні тварини були поділені на 6 груп: до першої (інтактної) групи увійшли 6 щурів. До другої групи увійшли 6 щурів, яким було проведено хірургічне втручання, але без імплантації хірургічної сітки. До третьої групи увійшли 7 щурів з імплантованою хірургічною сіткою, покритою танталом. До четвертої групи увійшли 7 щурів з імплантованою хірургічною сіткою, покритою оксидом тантала. До п'ятої групи - 7 щурів

з імплантованою хірургічною сіткою, покритою нітридом тантала. До шостої групи увійшли 7 щурів з імплантованою хірургічною сіткою без покриття.

Експериментальних тварин утримували у алюмінієвих клітках розміром 41x41x20 см на підстилці з тирси по 4 особини в кожній клітці при температурі навколишнього середовища $20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, відносній вологості на рівні $60\%\pm 10\%$ та при комбінованому освітленні у 300 Люкс відповідно до «Стандартних правил по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)», дотримуючись загальних принципів біоетики відповідно до Гельсінської декларації (Всесвітня медична асамблея, 1964). Тварини утримувалися на раціоні типу кормова суміш у кількості 92-95г на добу. Поїння тварин відбувалося шляхом вільного доступу до охолодженої води з її попереднім кип'ятінням. Проводився щоденний контроль за загальним станом, масою тіла та кількістю вжитого корму та води. Усі маніпуляції з тваринами проводили в стандартних лабораторних умовах з 09:00 до 11:00.

У дослідженні використовувалася поліпропіленова хірургічна сітка «Омега II стандарт» (Укртехмед, Україна) розміром 15x15 мм. Різновиди покриттів (тантал, оксид танталу, а саме Ta_2O_5 , та нітрид танталу) на поверхні хірургічних сіток наносили методом реактивного магнетронного напилення у вакуумній камері на базі навчально-наукового інституту «Фізико-технічний факультет» Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.

При проведенні маніпуляцій із експериментальними тваринами суворо дотримувалися вказівок Директиви ЄС 2010/63/ЄС щодо захисту тварин, що використовуються в наукових цілях, і Конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986; переглянута та доповнена у 2006), дослідження ухвалено Комітетом з біоетики Харківського національного медичного університету згідно

Закону України №3447-IV ст.26 ЗУ «Про захист тварин від жорстокого поводження» (протокол №.3 від 21.09.2020 року).

2.2 Протокол хірургічного втручання

Хірургічне втручання (рис.2.1-2.3) відбувалося на базі Експериментальної біологічної клініки Харківського національного медичного університету за участі доктора медичних наук, професора кафедри хірургії №1 ХНМУ Смачило Ростислава Михайловича (договір про співробітництво №205/11-20/н від 11 листопада 2020 р).



Рисунок 2.1, 2.2, 2.3. Проведення хірургічного втручання щурам-самцям популяції WAG з імплантацією хірургічних сіток на основі танталу та його похідних.

За допомогою внутрішньочеревного шляху введення проводилася анестезія шляхом введення препарату «Релакс» (БіоТестЛаб, Україна), у дозі 8 мг/кг маси тіла експериментальної тварини. Діючою речовиною є 1 % пропофол. Після початку дії анестезії операційне поле було двічі оброблено розчином Бетадину. Далі експериментальним тваринам із груп 2-5 був зроблений розріз довжиною 15мм у місці проекції товстої кишки, розсічені шкіра та підшкірна клітковина. Була проведена імплантація поліпропіленової хірургічної сітки між різними відділами товстої кишки та черевної стінки. Фіксування хірургічної сітки виконувалося шовним матеріалом «Prolene» (Becton Dickinson, USA), простими швами по вершині сітки, вузлами на бік апоневротичної площини, мінімізуючи кількість внутрішньо очеревинного стороннього тіла.

2.3 Забір матеріалу, показники, що досліджуються, та методи їх виміру

Через 28 діб після хірургічного втручання проводили декапітацію експериментальних тварин шляхом цервікальної дислокації та здійснювали забір крові у стерильні пробірки K2 EDTA VACUTAINER (BD Vacutainer®, Гуанжоу, Китай).

Після виведення щурів із експерименту, у тварин проводився забір цільної крові для проведення проточної цитофлюорометрії. Для визначення біохімічних показників оксидантно - антиоксидантної системи, протизапальних цитокінів, гострофазових показників використовували сироватку крові. Також, нами проводився забір матеріалу передньої брюшної стінки, тканин навкруги імплантованої хірургічної сітки для проведення морфологічних досліджень.

Кров центрифугували на центрифугі Universal 320R для отримання сироватки протягом 10 хвилин при 3000 обертах/хв. Щоб уникнути ефекту дії неодноразових циклів заморожування розморожування

сироватку крові розливали в кілька мікропробірок типу Eppendorf і зберігали при -51°C у морозильній камері Haier Ultra Low Temperature Freezer (Китай).

2.3.1. Визначення генерації активних форм кисню лейкоцитами та видів клітинної смерті лейкоцитів

Отримання суспензій лейкоцитів.

Зразки крові експериментальних тварин використовувалися у тому числі й для отримання суспензій лейкоцитів відповідно до протоколу процедури лізування / промивання. Спочатку 100 мкл зразків крові від різних щурів додавали у пробірку з полістирола 12 x 75 мм із закритою кришкою (Falcon, 5 ml Polysterene Round-Bottom Tube, Corning Science Mexico, S.A. de C.V., Mexico). Потім додавали 2 мл 1x FACSLyse розчину (BD FACS™ Lysing Solution, Becton, Dickinson and Company BD Biosciences, 9029989, Сан Хосе, США) аби такий самий об'єм розчину 1x Pharmlyse (BD Pharmlyse™ Lysing Buffer, партія 0070764, Сан-Хосе, США). Розчини перемішували за допомогою вортексування та проводили процес інкубування протягом 15 хв. при температурі $23-25^{\circ}\text{C}$ у темряві. Згідно протоколу дослідження пробірки з розчинами центрифугували при 500g протягом 5 хвилин з використанням центрифуги Universal 320 R. Супернатант був видалений, додавали 2 мл натрій-фосфатного буферу (PBS, pH 7,4; BDTM Cell Wash, Польща). Процедуру повторювали двічі.

Фарбування суспензії лейкоцитів анексином V FITC та 7-AAD для оцінки життєздатності та видів клітинної смерті лейкоцитів.

Після лізування еритроцитів та подальшого подвійного відмивання клітини ресуспендували в 1 мл 1x анексин-зв'язуючого буфера (BD Pharmingen™ Annexin V Binding Buffer, партія 8145742, BD Biosciences, Сан-Хосе, США). Потім аліквоти 100 мкл зразків інкубували з анексином V, міченим флуоресцеїном ізотіоціанатом (FITC) (BD Pharmingen™ FITC-Annexin V, партія 8311824, BD Biosciences, Сан-Хосе, США) та додавали до суспензій лейкоцитів 5 мкл 7-аміноактиноміцину D (7-AAD, BD

Pharmingen™, партія 8263992, BD Biosciences, Сан-Хосе, США). Після інкубації протягом 20 хвилин додавали 400 мкл 1х анексин-зв'язуючого буферу.

Обробка результатів проточної цитометрії: гейтинг популяцій CD45⁺-клітин та життєздатних клітин.

Результати аналізували за допомогою проточного цитометра BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США). Для збору та обробки результатів було використано програмне забезпечення BD FACSDiva™ та FlowJo™ v10.8.

Для ідентифікації області життєздатних клітин використовували SSC/FL6 дотплоти після фарбування антитілами мишачими до щурячого CD45, що були мічені тандемним флуорохромом APC-Cy™7 (BD Pharmingen, No 561586, клон ОХ-1, США). Приклади стратегії виділення лейкоцитів продемонстровані на рис. 2.4.

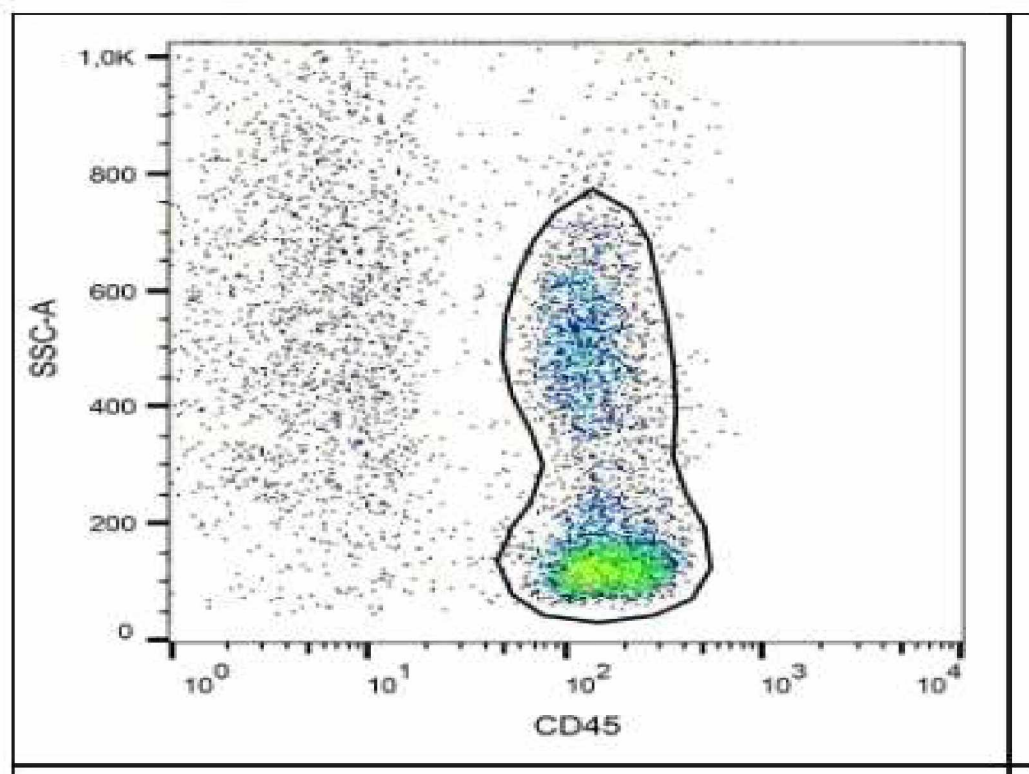


Рисунок 2.4. Стратегія виділення популяцій CD45⁺-клітин периферичної крові.

У гейтованому регіоні були визначені життєздатні клітини, що були негативно забарвлені 7-AAD, оскільки цей флуоресцентний барвник зв'язується з дволанцюжковою ДНК за умов порушення цілісності клітинної мембрани, і 7-AAD може потрапити в клітину. Флуоресценцію 7-AAD визначали в каналі FL-3. На рисунку 2.5 наведено репрезентативний приклад ідентифікації життєздатних лейкоцитів.

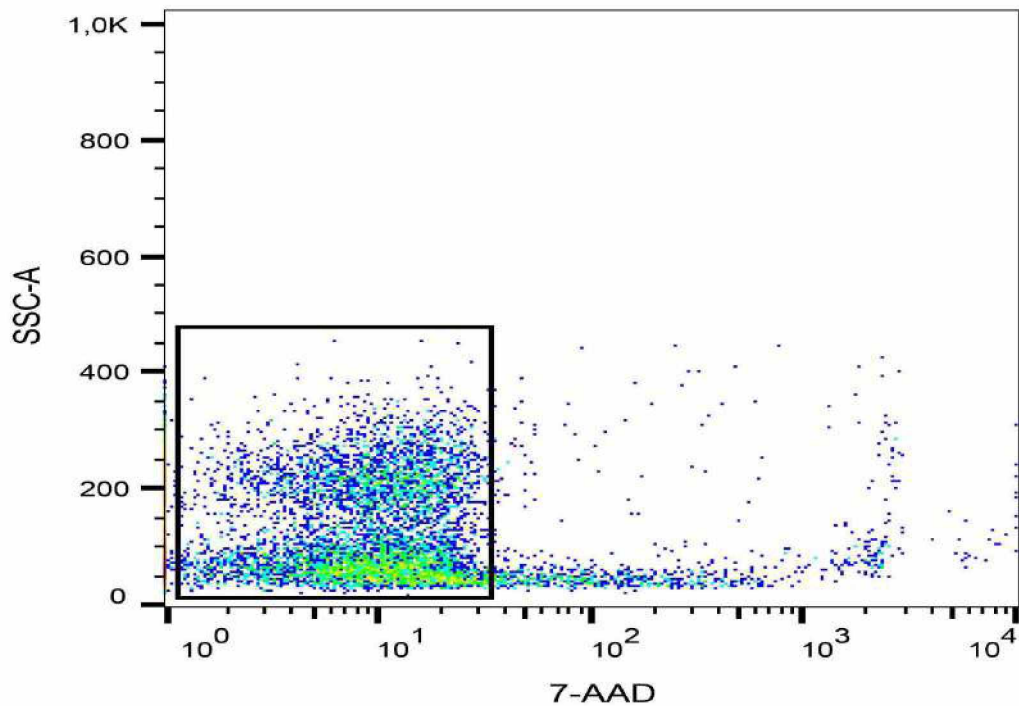


Рисунок 2.5. Ідентифікація життєздатних клітин шляхом визначення популяції 7-AAD-негативних клітин - виділено регіон життєздатних клітин.

Обробка результатів фарбування анексин V-FITC та 7-AAD.

Оцінка видів клітинної смерті апоптозу/некрозу лейкоцитів проводилася шляхом одночасного додавання маркерів: FITC-міченого анексину V (Annexin V FITC), фікоеритрин-мічених мишиних моноклональних антитіл до CD45 (CD45 PE) та 7-аміноактиноміцину (7-AAD). П'ять мкл анексина V, 10 мкл 7-AAD та 10 мкл CD45 PE додавали до 50 мкл цільної крові. Потім розчини перемішували та інкубували протягом 15 хвилин при кімнатній температурі, уникаючи впливу світла. Оцінка

результатів була проведена за допомогою програм «CELLQuest Pro» та «WinMDI Version 2.9».

Анексин V-FITC оптимально збуджується при 494 нм й має пікове випромінювання при $\lambda=519$ нм, тому флуоресценцію вимірювали на стандартному каналі FITC (детектор FL1). Відомо, що 7-AAD збуджується при $\lambda=488$ нм і випромінює приблизно при $\lambda=670$ нм, тому флуоресценція детектувалася на каналі FL3. Аналіз клітин, забарвлених анексином V та 7-AAD, дозволяла ідентифікувати чотири популяції клітин: 1 - життєздатні клітини (анексин V⁻, 7-AAD⁻); 2 - ранні апоптотичні клітини (анексин V⁺, 7-AAD⁻); 3 - пізні апоптотичні (анексин V⁺, 7-AAD⁺); 4 - мертві некротичні клітини (анексин V⁻, 7-AAD⁺). Оцінку результатів проведено за допомогою програм «BD Cell Quest Pro» та «WinMDI Version 2.9».

Оцінка генерації АФК лейкоцитами за допомогою барвника H2DCFDA методом проточної цитометрії та обробка результатів проточної цитометрії.

Генерацію АФК у лейкоцитах визначали за реакцією з робочим розчином 2,7-дихлордигідрофлуоресцеїну діацетату (H2DCFDA, Invitrogen TM, США) з кінцевою концентрацією АФК (активні форми кисню) - чутливого барвника. H2DCFDA широко використовується для визначення внутрішньоклітинного вмісту АФК. При попаданні в клітину H2DCFDA деацетилюється естеразами і при взаємодії з АФК перетворюється на DCF, інтенсивність флуоресценції якого пропорційна вмісту АФК у клітині.

Суспензію лейкоцитів піддавали дії сенсора вільних радикалів H2DCFDA (InvitrogenTM, США) при кінцевій концентрації 5 мкМ. Робочий розчин H2DCFDA готували з його вихідного розчину в диметилсульфоксиді (ДМСО) (10 мМ). Клітини інкубували при 37 °С протягом 30 хв. Крім того, суспензії лейкоцитів інкубували з 10 мкл мишачих антитіл до щурячого CD45, які були мічені тандемним флуорохромом APC-CyTM7 (BD Pharmingen, No 561586, клон ОХ-1, США) та 5 мкл 7-AAD (BD Pharmingen, No 559926, США) для розрізнення

життєздатних лейкоцитів. Після інкубації клітини двічі промивали для видалення залишків H2DCFDA. Зразки аналізували на проточному цитометрі «BD FACSCanto II» ("Becton Dickinson", США) при $\lambda=525$ нм з реєстрацією середньої інтенсивності флуоресценції дихлорфлуоресцеїну (DCF).

Зразки аналізували за допомогою проточного цитометра FACS Canto II (BD Biosciences, США). Канал FL-1 використовували для виявлення флуоресценції 2',7'-дихлорфлуоресцеїну (DCF), який є АФК - чутливим барвником, що утворюється внутрішньо клітинно за умов дії АФК після попереднього впливу естераз з H2DCFDA. За допомогою програмного забезпечення BD FACSDiva™ (Becton Dickinson, США) аналізували середню інтенсивність флуоресценції ДХФ для кількісної оцінки внутрішньоклітинної продукції АФК. Таким чином, флуоресценцію ДХФ вимірювали в каналі FL1 у CD45⁺ та 7-AAD⁻ клітинах у тварин усіх експериментальних груп.

Для порівняння числових значень показників середньої інтенсивності флуоресценції (MFI) DCF незалежних груп застосовували Критерій Крускала-Уолліса з подальшим розрахунком критерію Данна.

2.3.2. Визначення вмісту 8-ізопростану як основного показника оксидативного стресу

Вміст 8-ізопростану у сироватці крові щурів вимірювали ІФА - методом за допомогою набору «8-isoprostane EIA KIT» (Cayman Chemical, США) згідно з інструкціями виробника на спектрофотометрі «Solar» PV-1251C. Вміст 8-ізопростану в крові щурів визначений в пг/мл. Принцип методу: конкуренція між 8-ізопростаном та 8-ізопростан-холінестеразою за конюгацію з лімітованим числом 8-ізопростан специфічних антисироваткових сайтів. Продукт цієї реакції має чіткий жовтий колір і абсорбується строго при довжині хвилі 412 нм. Інтенсивність жовтого забарвлення пропорційна кількості 8-ізопростану.

Хід дослідження:

1. Зразки крові центрифугували при 1000x g протягом 10 хвилин і переносили супернатант у пробірку.
 2. Активували картридж SPE (С-18) (6 мл), промивали 5 мл метанолу, а потім додавали 5 мл води.
 3. Пропускали зразок через картридж SPE, з подальшим промиванням картриджу 5 мл води.
 4. Елюювали 8-ізопростан 2 мл метанолу.
 5. Випаровували розчин метанолу.
 6. Додавали 300 мкл буфера ELISA (1X) і перемішували.
- Зразок був готовий для використання в імунологічному аналізі.

Переносили 100 мкл стандарту ELISA 8-Isoprostane у чисту пробірку, потім зразок розводили 900 мкл води. Концентрація розчину основного стандарту становила 5 нг/мл. Для підготовки стандарту для використання в ELISA ми брали вісім пробірок з нумерацією їх від 1 до 8. Розмішували 900 мкл буфера ELISA (1X) у пробірку №1 і 750 мкл буфера ELISA (1X) у пробірки №2-8. Переносили 100 мкл основного стандарту (5 нг/мл) у пробірку №1 і ретельно перемішували. Концентрація стандарту, перша точка стандартної кривої, становила 500 пг/мл. Послідовно розводили стандарт, забирали 500 мкл із пробірки №1 і розмішували у пробірці №2; ретельно перемішували. Далі забирали 500 мкл із пробірки №2 і помістили у пробірку №3; ретельно перемішували. Повторили цей процес для пробірок №4-8.

Додавали 100 мкл буфера ELISA (1X) до лунок NSB. Додали 50 мкл буфера ELISA (1X) до лунок B0. Якщо культуральне середовище використовувалося для розведення стандартної кривої, заміняли 50 мкл культурального середовища на буфер ELISA (1X) в лунках NSB і B0 (тобто додавали 50 мкл культурального середовища в лунки NSB і B0 і 50 мкл буфера ELISA (1X) до свердловин NSB). 8-Isoprostane ELISA Standard додавали 50 мкл із пробірки №8 до обох найнижчих стандартних лунок

(S8). Додавали 50 мкл із пробірки №7 до кожної з наступних двох стандартних лунок (S7). Продовжували цю процедуру, доки всі стандарти не були розділені на аліквоти. Додавали 50 мкл зразка на лунку. Кожен зразок аналізували як мінімум у двох розведеннях. Кожне розведення аналізувати в двох примірниках. 8-Isoprostane-AChE Tracer додавали 50 мкл до кожної лунки. Антисироватку 8-Isoprostane ELISA додавали 50 мкл до кожної лунки.

2.3.3. Визначення біохімічних маркерів антиоксидантної системи

Активність каталази у сироватці крові визначали імуноферментним методом за допомогою набору для визначення вмісту каталази «Catalase ELISA Kit» (Elabscience, USA) на імуноферментному аналізатора «Stat Fax 1904». Активність каталази в крові щурів визначали в U/ml, принцип методу полягав у зменшенні перекису водню.

Хід дослідження: У стандартні лунки для формальдегіду додавали 100 мкл буфера для аналізу каталази (1X), 30 мкл метанолу та 20 мкл стандарту (пробірки A-G) на кожну лунку в призначені лунки планшета. Лунки позитивного контролю (CAT печінки великої рогатої худоби) - додавали 100 мкл буфера для аналізу каталази (1X), 30 мкл метанолу та 20 мкл розведеної каталази (контроль) у дві лунки. Лунки для зразків - додавали 100 мкл буфера для аналізу каталази (1X), 30 мкл метанолу та 20 мкл зразка до двох лунок. Якщо було необхідно, зразки розбавляли Catalase Sample Buffer (1X). Розпочинали реакцію, додавши 20 мкл розведеного перекису водню до всіх використовуваних лунок на початку реакції. Інкубували протягом 20 хвилин при кімнатній температурі. Додавали 30 мкл гідроксиду калію в кожну лунку, щоб припинити реакцію, а потім 30 мкл Catalase Purpald (Chromogen) в кожну лунку. Далі ми проводили інкубування протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. Вносили 10 мкл періодату калію до кожної лунки. Накривали пластину кришкою та інкубували п'ять хвилин при кімнатній температурі. Активність каталази у сироватці крові щурів визначали на спектрофотометрі при $\lambda=540$ нм.

Активність супероксиддисмутази визначали за допомогою набору «SOD1 (Superoxide Dismutase 1) ELISA Kit» (FineTest, США) згідно з інструкціями виробника. Активність супероксиддисмутази визначали в U/ml, принцип методу полягав у вимірюванні ефекту гальмування ферментом процесу окислення кверцетину молекулярним киснем. Хід дослідження: Перед дослідженням розводили сироватку 1:20 з 1X PBS (10 мкл зразка до 190 мкл 1X PBS). Промивали мікропланшет двічі приблизно 400 мкл 1X промивним буфером на лунку з ретельною аспірацією вмісту мікропланшету між промиваннями. Буфер залишали в лунках приблизно на 10-15 секунд перед аспірацією. Додавали 100 мкл готових стандартів (включаючи стандарт порожньої контроль) у відповідні лунки. Додавали 90 мкл 1X PBS в лунки, до яких будуть додані зразки. Вносили 10 мкл зразків у відповідні лунки, потім 50 мкл кон'югату HRP в усі лунки. Інкубували при кімнатній температурі протягом 3 годин. Промили мікропланшет та смужки 3 рази відповідно. Додавали 100 мкл розчину субстрату TMB в усі лунки. Інкубували смужки мікропланшетів при кімнатній температурі (18-25°C) протягом 10 хвилин. Зупинили реакцію ферменту, додавши 100 мкл Stop Розчин в кожен лунку. Зчитали абсорбцію, кожного мікропланшета на спектрофотометрі «Solar» PV-1251C при $\lambda=450$ нм.

2.3.4. Визначення вмісту прооксидантних інтерлейкінів

Вміст інтерлейкіну-1 бета в сироватці крові визначали за допомогою набору «IL-1 beta ELISA Kit» (Abcam, USA). Вміст інтерлейкіну-1 бета в сироватці крові щурів визначали в pg/ml, принцип методу ґрунтувався на додаванні Стрептавідін-HRP і його зв'язуванні з біотин-кон'югованим антитілом IL-1 beta. Додавали 50 мкл усієї суміші стандарту у відповідні лунки, 50 мкл суміші антитіл до кожної лунки, закрили планшет та центрифугували протягом 2 годин при кімнатній температурі на центрифuzі для планшетів при 400 об/хв. Після цього промивали кожен лунку буфером РТ шляхом аспірації, розподілили 350 мкл промивного буфера РТ у кожен лунку. Промивний буфер РТ залишали

в лунках щонайменше 10 секунд. Додавали 100 мкл розчину для проявлення ТМВ у кожному лунку та центрифугували протягом 10 хвилин у темряві на планшетній центрифугі, встановленій на 400 об/хв. Далі ми додавали 100 мкл стоп-розчину в кожному лунку і знову центрифугували планшет протягом 1 хвилини, щоб перемішати. Отримані результати оцінювали за допомогою спектрофотометру «Solar» PV-1251С при довжині хвилі 450 нм.

Вміст інтерлейкіну-6 в сироватці крові визначали за допомогою набору «IL-6 ELISA Kit» (Abcam, USA). Вміст інтерлейкіну-6 в крові визначений в pg/ml, принцип методу ґрунтувався на використанні моноклональних антитіла (MAbs), спрямовані проти різних епітопів ІЛ-6. Визначення проводили згідно інструкцій виробника. Додавали 50 мкл усієї суміші стандартного розчину у відповідні лунки, далі вносили 50 мкл суміші антитіл до кожної лунки, закрили планшет та центрифугували протягом 2 годин при кімнатній температурі на центрифугі для планшетів при 400 об/хв. Після цього промили кожному лунку буфером РТ шляхом аспірації, а потім розподілили 350 мкл промивного буфера РТ у кожному лунку. Промивний буфер РТ залишався в лунках протягом 10 секунд. Після цього, ми вносили 100 мкл розчину для проявлення ТМВ у кожному лунку та центрифугували протягом 10 хвилин у темряві на планшетній центрифугі, встановленій на 400 об/хв. Додавали 100 мкл стоп-розчину в кожному лунку і знову центрифугували планшет протягом 1 хвилини. Отримані результати оцінювали за допомогою спектрофотометру «Solar» PV-1251С при $\lambda=450$ нм.

2.3.5. Визначення показників гострої фази

У роботі використовувався набір для визначення вмісту С – реактивного білку «CRP ELISA Kit» (Immun Diagnostik, USA). Вміст С – реактивного білку визначений в mg/L. Принцип методу базується на здатності СРБ взаємодіяти з антитілами до нього, що знаходяться на латексі.

До 10 мкл розведеної сироватки (різні розведення) додають 10 мкл латексної суміші з оцінкою аглютинації. Перед використанням промивали лунки 5 разів 250 мкл промивного буфера. Додавали кожні 100 мкл підготовлених зразків у відповідні лунки. Інкубували протягом 1 години при кімнатній температурі. Видаляли вміст кожної лунки та промивали 5 разів 250 мкл рідиною буфера. Додавали 100 мкл кон'югату (розведеного CONJ) у кожну лунку, інкубували протягом 1 години при кімнатній температурі. Після останнього етапу промивання видаляли залишки промивного буфера. Додавали 100 мкл субстрату (SUB) у кожну лунку. Інкубували 15 хв при кімнатній температурі (15–30°C) у темряві. Додали 100 мкл стоп-розчину (STOP) у кожну лунку та добре перемішали. Визначали дані поглинання за допомогою спектрофотометру при $\lambda=450$ нм.

Вміст гаптоглобіну у сироватці крові щурів визначали за допомогою набору «Haptoglobin ELISA Kit» (Abcam, USA). Вміст гаптоглобіну визначений в mg/L, принцип методу ґрунтувався на турбідиметричному вимірі. Мутність викликала утворенням нерозчинних імунокомплексів антиген-антитіло. Додавали 50 мкл зразка у відповідні лунки. Потім вносили 50 мкл суміші антитіл до кожної лунки. Інкубували протягом години при кімнатній температурі на центрифугі для планшетів при 400 об/хв., далі промивали кожну лунку 3х 350 мкл 1X промивного буфера РТ. Потім розподілили 350 мкл 1X промивного буфера РТ в кожну лунку. Далі додавали 100 мкл розчину ТМВ для прояву в кожну лунку та інкубували протягом 10 хвилин у темряві на центрифугі, встановленій на 400 об/хв. Далі ми додавали 100 мкл стоп-розчину в кожну лунку, центрифугували протягом 1 хвилини.

Визначали дані поглинання за допомогою спектрофотометру «Solar» PV-1251С при довжині хвилі 450 нм.

Вміст церулоплазміну визначали за допомогою набору «Ceruloplasmin ELISA Kit» (Abcam, USA). Вміст церулоплазміну

визначений в mg/L, принцип методу ґрунтувався на реакції ферментативного окислення парафенілендіаміну церулоплазміном, яка інактивується фторидом натрію. На початку ми до 100 мкл сироватки додавали до неї 100 мкл насиченого розчину сульфату амонію. Центрифугували при 10 000 об/хв при кімнатній температурі протягом 5 хвилин для утворення осаду білка та видалення 160 мкл прозорий супернатант за допомогою піпетки. Додавали 160 мкл дистильованого H₂O до осаду та розчиняли. Далі ми додали зразки еквівалентно від 5 до 20 мкл у 96-лунковий планшет і доводили об'єм до 100 мкл за допомогою буфера для аналізу церулоплазміну. Встановлювали планшет-рідер на 25°C і розмішували буфер для аналізу церулоплазміну у водяну баню з температурою 25°C на 30 хвилин перед дослідженням. Для кожної лунки та стандарту приготували 100 мкл суміші та додавали 100 мкл реакційної суміші до кожної лунки зразка та стандарту. Визначали дані поглинання за допомогою спектрофотометру «Solar» PV-1251C при довжині хвилі 560 нм.

Дослідження вмісту сіроглікоїдів у сироватці крові тварин проводився турбідиметричним методом за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна). Метод базується на здатності хлорної кислоти індукувати осадження білків при збереженні сіроглікоїдів у розчині з подальшим осадженням сіроглікоїдів фосфорновольфрамовою кислотою. Згідно з методикою 0,1 мл сироватки змішували з 0,9 мл фізіологічного розчину (0,9% NaCl, Юрія-Фарм, Україна) та 0,5 мл робочого розчину хлорної кислоти. Після інкубації протягом 10 хвилин при кімнатній температурі розчини центрифугували (500g) протягом 15 хвилин. Оптичну щільність міряли на аналізаторі «STAT FAX 303+» (США) при довжині хвилі 630 нм. Концентрацію виражали в одиницях S-N за шкалою Shank-Noagland.

2.3.6. Морфологічне дослідження

Після проведення декапітації експериментальних тварин проводили забір фрагментів тканин, що були розташовані поряд з імплантованими хірургічними сітками з різними покриттями, які піддавалися перфузії фізіологічним розчином.

Матеріалом для морфологічного дослідження були фрагменти передньої черевної стінки в групі 1, а в групах 2-6 – фрагменти передньої черевної стінки з області оперативного втручання. Матеріал фіксували в 10% розчині формаліну. Ущільнення тканин, фіксованих у формаліні, досягалося проведенням через спирти зростаючої концентрації, розчин Нікіфорова (96 % спирт та діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ та заливанням у парафін. З виготовлених блоків були зроблені серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м для наступного забарвлення гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за ван Гізоном.

Ступінь вираженості виявлених загальнопатологічних процесів оцінювали за допомогою напівкількісної шкали: «-» – відсутні, «+» – слабкі, «++» – помірні, «+++» – помірно виражені, «++++» – виражені, «+++++» – сильно виражені.

Дослідження виготовлених мікропрепаратів були проведені на кафедрі загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету за допомогою мікроскопів ZEISS Primostar 3 (Carl Zeiss, Німеччина) з вбудованою кольоровою цифровою камерою, BRESSER Science TFM-301 Trino з камерою BRESSER Full HD (Bresser GmbH, Німеччина). За допомогою програми Labscope було проведено морфометричне дослідження, під час якого визначали в групах 3-6 товщину шару грануляційної тканини, що сформувалася навкруги хірургічної сітки.

Імуногістохімічне дослідження було проведено на адгезивних скельцях Super Frost Plus (“Menzel”, Німеччина). Використовували систему детекції Master Polymer Plus Detection (Peroxidase, хромоген ДАБ) (Master

Diagnostica, Spain), для високотемпературної обробки епітопів антигенів цитратний буфер (pH 6,0), EDTA буфер (pH 8,0). Імуногістохімічне дослідження проводили з використанням кролячих моноклональних антитіл (МАК) до p53 (клон SP5, Master Diagnostica, Spain) (маркер апоптозу), Ki-67 (клон SP6, Master Diagnostica, Spain) (маркер проліферації), мишачого МКА до CD34 (клон Clone QB-End/10, Master Diagnostica, Spain) (маркер ендотелію судин). Мікропрепарати дозобарвлювали гематоксилином та еозином. Імуногістохімічні реакції оцінювали в грануляційній тканині, що формувалася навкруги хірургічної сітки, шляхом, по-перше, підрахунку абсолютної кількості p53-позитивних та Ki-67-позитивних клітин у полі зору мікроскопа $\times 400$; по-друге, підрахунку кількості судин, ендотеліоцити яких експресують МКА до CD34, у полі зору мікроскопа $\times 100$.

Показники в групах обробляли статистично за допомогою програми PAST (version 4.15, Natural History Museum, University of Oslo, Norway). Середні значення показників у групах порівнювали за допомогою t-критерію Ст'юдента та U-критерію Манна-Уїтні. Результати в групах представляли у вигляді медіани (Me) та інтерквартильного інтервалу (Me [25%; 75%]). Відмінності вважалися значимими при $p < 0,05$.

2.4 Статистична обробка отриманих даних

Отримані в результаті дослідження дані оброблялися статистично за допомогою комп'ютерної програми «Graph Pad Prism 5» (Graph Pad, США). Для порівняння показників двох незалежних груп використовувався метод розрахунку непараметричного U критерію Манна-Уїтні та параметричного t-критерію Ст'юдента. При використанні непараметричного U критерія цифрові дані представлені в вигляді медіани (Me) та інтерквартильного розмаху (25%, 75%). Граничним значенням статистичної достовірності отриманих результатів вважалось p

$< 0,05$. Для визначення кореляційної між двома незалежними показниками використовувалось визнання непараметричного коефіцієнту кореляції Спірмена. При значенні $r < + 0,3$ кореляційний зв'язок вважався слабким, при $r = + 0,3 - 0,7$ – середнім, а при $r > + 0,7$ кореляційний зв'язок розцінювався як сильний.

РОЗДІЛ 3
ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕРАЦІЇ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА ВИДІВ
КЛІТИННОЇ СМЕРТІ ЛЕЙКОЦИТІВ ЩУРІВ ПІСЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ
ХІРУРГІЧНИХ СІТОК З ПОКРИТТЯМ НА ОСНОВІ ТАНТАЛУ ТА ЙОГО
ПОХІДНИХ

**3.1 Інтенсивність процесів генерації активних форм кисню лейкоцитами
крові експериментальних тварин**

Проточна цитофлюорометрія використовується у сучасних наукових дослідженнях для визначення фізико - хімічних характеристик клітин із використанням оптичного методу зі застосуванням складної лінзи, через яку можна ретельно досліджувати зміни стану клітини у відповідь на внутрішні та зовнішні фактори [112].

В основі проточної цитометрії лежить інтеграція рідинних, оптичних та електронних систем. Клітини, суспендовані в рідині, рухаються по одній лінії через сфокусований лазерний промінь, де взаємодія між клітинами та лазерним світлом дає сигнали розсіювання та флюоресценції. Ця технологія поєднує принципи розсіювання світла, вимірювання флюоресценції, динаміку рідини для аналізу та сортування клітин по черзі, сприяє швидкому отриманню даних від тисяч до мільйонів клітин за лічені хвилини. Цей метод охоплює різні сфери біологічних досліджень, зокрема використовується для кількісного визначення активних форм кисню (АФК) і диференціації видів смерті клітин, для розуміння впливу різних факторів та патологічних станів на генерацію АФК, функціонування сигнальних шляхів та ефективності терапевтичних втручань [113-116].

Визначення генерації АФК в клітинах за допомогою проточної цитофлюорометрії дозволяє дослідити окисно-відновний стан клітини, виявити тонкий баланс між прооксидантними чинниками та клітинним захистом завдяки дії антиоксидантів (ферментативної та неферментативної

ланок).

Завдяки ретельному аналізу генерації АФК і видів клітинної смерті, проточна цитометрія є свідченням потужності сучасних технологій для дослідження життєдіяльності клітин, розвитку патологічних станів.

У нормальній клітині під час внутрішньоклітинного етапу метаболізму відбуваються процеси вільнорадикального окислення (ВРО). Синтез біологічно активних речовин (катехоламінів, ейкозаноїдів), робота мітохондріального ланцюга, проліферація та процеси диференціації клітин відбуваються паралельно з ВРО [117-119]. У реалізації цих процесів в клітинах відіграють ключову роль вільні радикали, що можуть утворювати АФК.

Активні форми кисню (АФК) — це невеликі високореакційноздатні молекули, утворені неповним відновленням кисню. Ці молекули включають вільні радикали, такі як супероксид-аніон, гідроксильний радикал, синглетний кисень, які відіграють подвійну роль у біологічних системах. З одного боку, вони мають вирішальне значення для клітинної сигналізації, механізмів захисту від патогенів і активації стресових реакцій. З іншого боку, надмірні рівні АФК можуть призвести до пошкодження клітин, зокрема клітинних мембран, сприяти патогенезу численних захворювань, включаючи рак, серцево-судинні захворювання, нейродегенеративні розлади та запускати процеси старіння [120].

Таким чином, виробництво АФК є природним побічним продуктом клітинного метаболізму, який переважно відбувається в мітохондріях під час аеробного дихання, але також генерується через інші клітинні процеси та ферментні системи, такі як НАДФН-оксидаза, ксантинооксидаза та під час метаболізму арахідонової кислоти [121]. Фактори навколишнього середовища, такі як ультрафіолетове світло, ксенобіотики та тютюновий дим тощо, можуть сприяти підвищенню рівня АФК в клітинах та викликати прооксидантно - антиоксидантний дисбаланс.

У фізіологічних умовах АФК служать сигнальними молекулами, які

регулюють такі процеси, як проліферація, диференціація клітин та апоптоз. Вони беруть участь у захисті організму від інфекційних агентів, діють безпосередньо як бактерицидні агенти в нейтрофілах та модулюють імунну відповідь. Крім того, АФК відіграють ключову роль в активації шляхів реакції на стрес, допомагають клітинам адаптуватися до шкідливих умов.

Таким чином, у здоровому організмі відбувається рівновага між показниками оксидативного стресу та компонентами антиоксидантного захисту. Клітини врівноважують АФК за допомогою функціонування складної антиоксидантної системи, що включає ферментативні та неферментативні компоненти.

До ферментативних антиоксидантів відносять супероксиддисмутазу (СОД), яка перетворює супероксид на перекис водню; каталазу, що розкладає перекис водню на воду і кисень; глутатіонпероксидазу, яка відновлює перекис водню та органічні гідропероксиди, глутатіонредуктазу, мієлопероксидазу та інші. Неферментативні антиоксиданти, такі як вітамін С, вітамін Е та глутатіон, безпосередньо знешкоджують АФК, запобігають їх взаємодії з життєво важливими клітинними компонентами [122].

Однак, коли генерація АФК переважає антиоксидантний захист клітини (механізми, які знешкоджують ці реактивні молекули) розвивається оксидативний стрес. Оксидативний стрес призводить до окислення та потенційної дисфункції клітинних компонентів: ліпідів, білків та ДНК. Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) клітинних мембран може вплинути на фізико-хімічні властивості, цілісність і функцію мембран, тоді як окислення ДНК може призвести до мутацій і геномної нестабільності, сприяти канцерогенезу та розвитку інших захворювань [123,124].

Існуючий баланс між виробництвом АФК і системою антиоксидантного захисту має вирішальне значення для підтримки клітинного гомеостазу та функціонування клітин. Порушення цього балансу на користь накопичення АФК у клітинах призводить до розвитку оксидативного стресу, який бере участь у патогенезі широкого спектру

захворювань, а також у процесі старіння. Розуміння механізмів утворення та регуляції АФК, клітинної відповіді на оксидативний стрес, впливу окислювального пошкодження мембранних структур на клітинну функцію та прогресування захворювання залишається значним напрямком біомедичних досліджень.

За даними наукової літератури відомо, що при хірургічному втручанні з імплантацією сіток може виникати дисбаланс між виробництвом АФК і вмістом компонентів антиоксидантного захисту, необхідних для їх нейтралізації та призводити до розвитку оксидативного стресу, що надалі буде сприяти спайкоутворенню та виникненню запального процесу [125].

Останніми роками дослідження ролі АФК вийшли за межі їхньої ролі побічних продуктів клітинного метаболізму до їх функції сигнальних молекул, які беруть участь у регуляції шляхів, що контролюють клітинну проліферацію, апоптоз та адаптацію до стресу. Змінюється наше розуміння ролі АФК від агентів пошкодження до невід'ємних компонентів сигнальних зв'язків. Ця подвійність АФК як шкідливих, так і корисних суб'єктів підкреслює складність їхньої ролі в біологічних реакціях організму [126,127].

Одними з клітин крові, що входять до складу імунної системи, є лейкоцити, найбільший відсоток яких приходить на нейтрофіли. Ці клітини є мікрофагами та виконують фагоцитоз бактеріальних клітин. Також, лейкоцити приймають безпосередню участь у реакціях запалення [128,129].

Джерелом енергії в цих клітинах є глюкоза, яка перетворюється в метаболічних шляхах: пентозофосфатному шляху і гліколізу. При фагоцитозі підвищується інтенсивність поглинання кисню нейтрофілами, завдяки чому відбувається синтез АФК. За участю НАДФН - залежної оксидази утворюється супероксидний аніон; НАДН-залежної оксидази - H_2O_2 ; та дії мієлопероксидази - гіпохлорної кислоти з подальшим

утворенням синглетного кисню. В свою чергу, надмірна генерація АФК може сприяти апоптозу [130,131].

Таким чином, вивчення генерації АФК лейкоцитами крові щурів після імплантації хірургічним сіток із різним типом покриття дозволить визначити розвиток оксидативного стресу та в подальшому вивчити вплив підвищеної генерації АФК на розвиток апоптозу/некрозу.

Аналіз отриманих результатів представлено в табл. 3.1. За допомогою проточної цитофлюориметрії було визначено середню інтенсивність флюоресценції (СІФ) дихлорфлюоросцеїну (ДФФ) у життєздатних лейкоцитах (CD45-позитивних, 7-AAD негативних).

Таблиця 3.1.

Аналіз флуоресценції (MFI) 2',7'-дихлорофлуоросцеїну у життєздатних лейкоцитах крові експериментальних та інтактних тварин

Групи тварин	Середня інтенсивність флюоресценції ДХФ в лейкоцитах, у.о. Медіана [25% перцентіль; 75% перцентіль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	3,286 [2,833; 5,252]
Група 2 Без імплантації (n=6)	4,574 [3,959; 4,971]
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	5,286 ^{c,d} [4,167; 6,198] $p_3=0,002$; $p_4<0,05$
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	5,714 ^{b,c} [5,146; 6,745] $p_2<0,05$; $p_3=0,007$
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	7,546 ^{a,b} [6,876; 7,835] $p_1=0,002$; $p_2<0,0001$
Група 6 Без покриття (n=7)	7,157 ^{a,b} [5,487; 8,375] $p_1=0,01$; $p_2=0,002$

Примітка: *a* - значима ($p_1 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 1; *b* - з показниками групи 2; *c* - з показниками групи 5; *d* - *c* порівняно з показниками групи 6.

Аналіз СІФ ДХФ показав, що у експериментальних щурів 5 та 6 груп спостерігалось підвищення генерації АФК лейкоцитами у порівнянні з цим показником у інтактних тварин на 129,6 % та 117,8 % відповідно. Підвищення СІФ ДХФ свідчить про високий рівень генерації АФК лейкоцитами крові даних тварин [197].

У інтактних тварин (група 1) середня інтенсивність флуоресценції ДХФ в лейкоцитах щурів складає 3.286 [2.833; 5.252] у.о. Ці значення будуть використані в якості референтних значень. На рис. 3.1 наведено генерацію АФК лейкоцитами щура №2 групи 1, середня інтенсивність флуоресценції DCF склала 4,231 у.о.

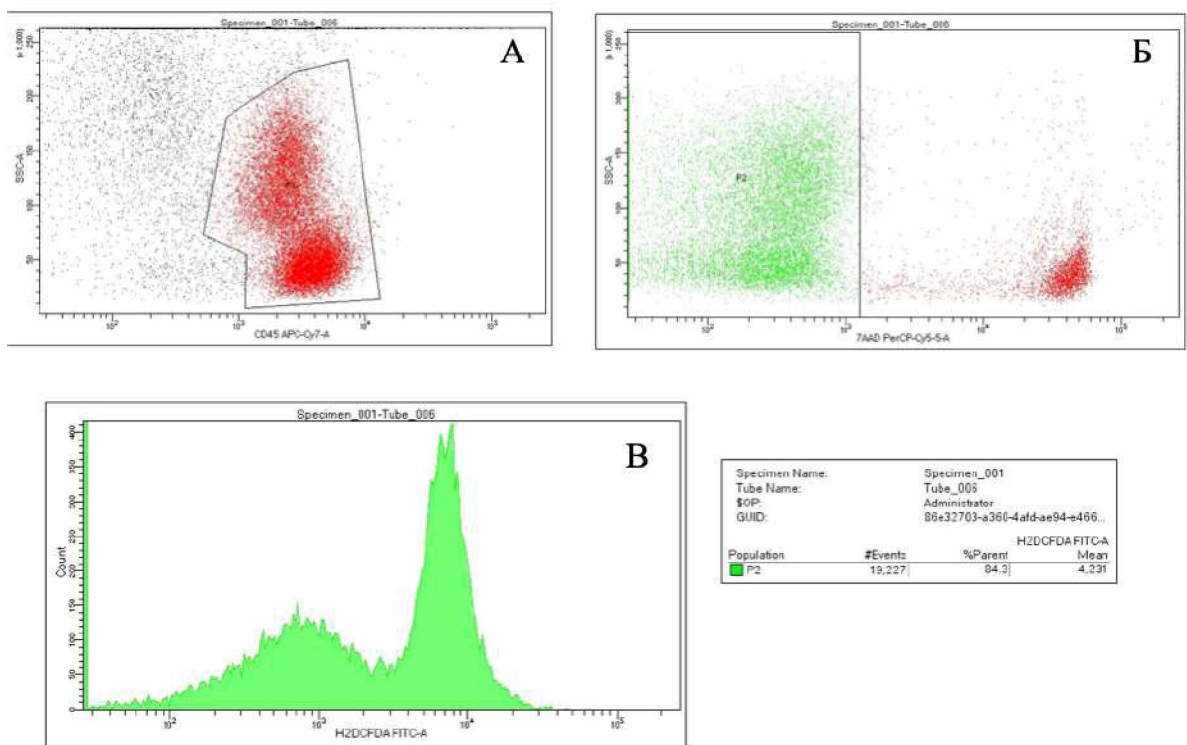


Рисунок 3.1. Репрезентативні цитограма (а), життєздатність клітин (б) і гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлуоресцеїн) (в) лейкоцитів щура №2 групи 1.

У результаті проведених досліджень на 28 добу було визначено, що генерація АФК в крові експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації статистично не відрізнялася від отриманих результатів у інтактних тварин, однак мала тенденцію до підвищення, а саме на 39,2 %.

На рис. 3.2 наведено генерацію АФК лейкоцитами щура №1 групи 2 середня інтенсивність флуоресценції DCF склала 5,371 у.о.

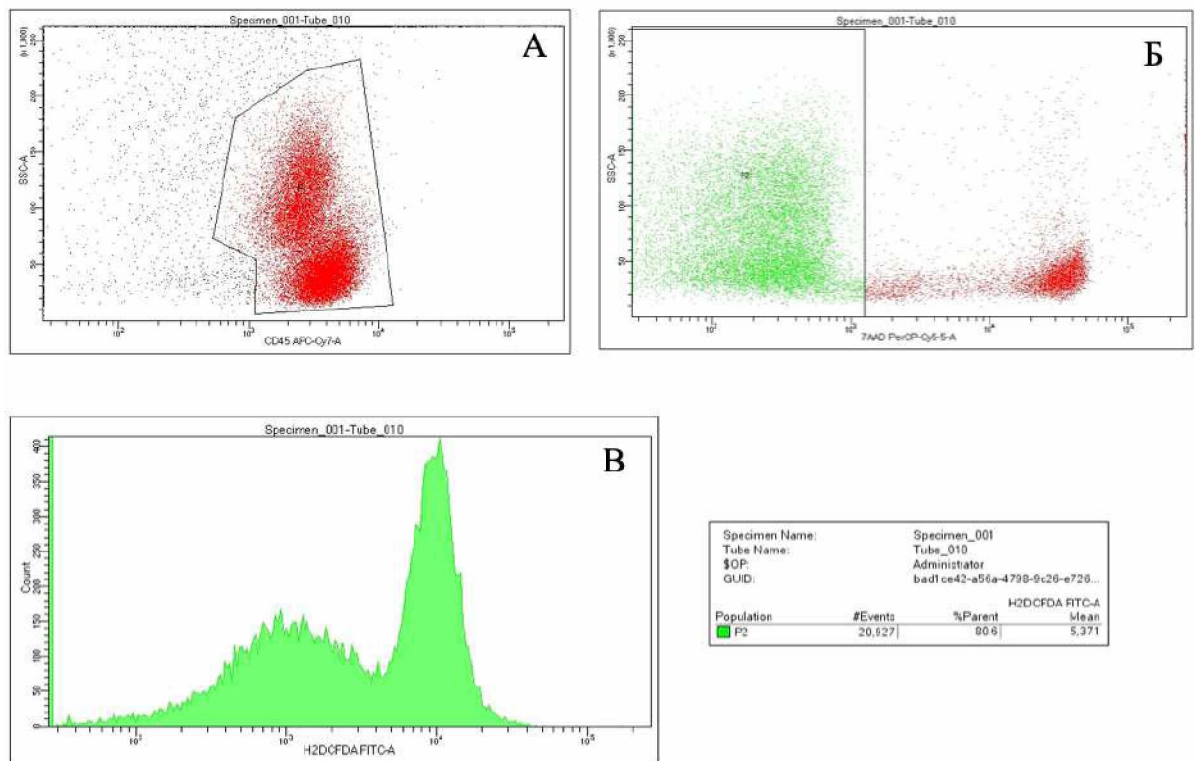


Рисунок 3.2. Репрезентативні цитограма (а), життєздатність клітин (б) і гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїн) (в) лейкоцитів щура №1 групи 2.

У третій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу генерація АФК лейкоцитами крові статистично не відрізнялася від показників, отриманих у інтактних тварин та у щурів, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації. Однак, вміст АФК лейкоцитами мав тенденцію до підвищення у порівнянні з цим показником у інтактних тварин [200,201].

Генерація АФК лейкоцитами крові щурів, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі танталу достовірно відрізнялася від отриманих результатів у щурів групи 5, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі нітриду танталу та групи 6, яким було імплантовано хірургічну сітку без покриття на 42,75 % та 35,4 %

відповідно. Саме при використанні хірургічної сітки без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу спостерігалось збільшення генерації АФК лейкоцитами крові щурів.

При аналізі СІФ ДХФ в життєздатних лейкоцитах щура №5 групи 3, представленого на рис. 3.3, середня інтенсивність флюоресценції DCF склала 6,839 у.о.

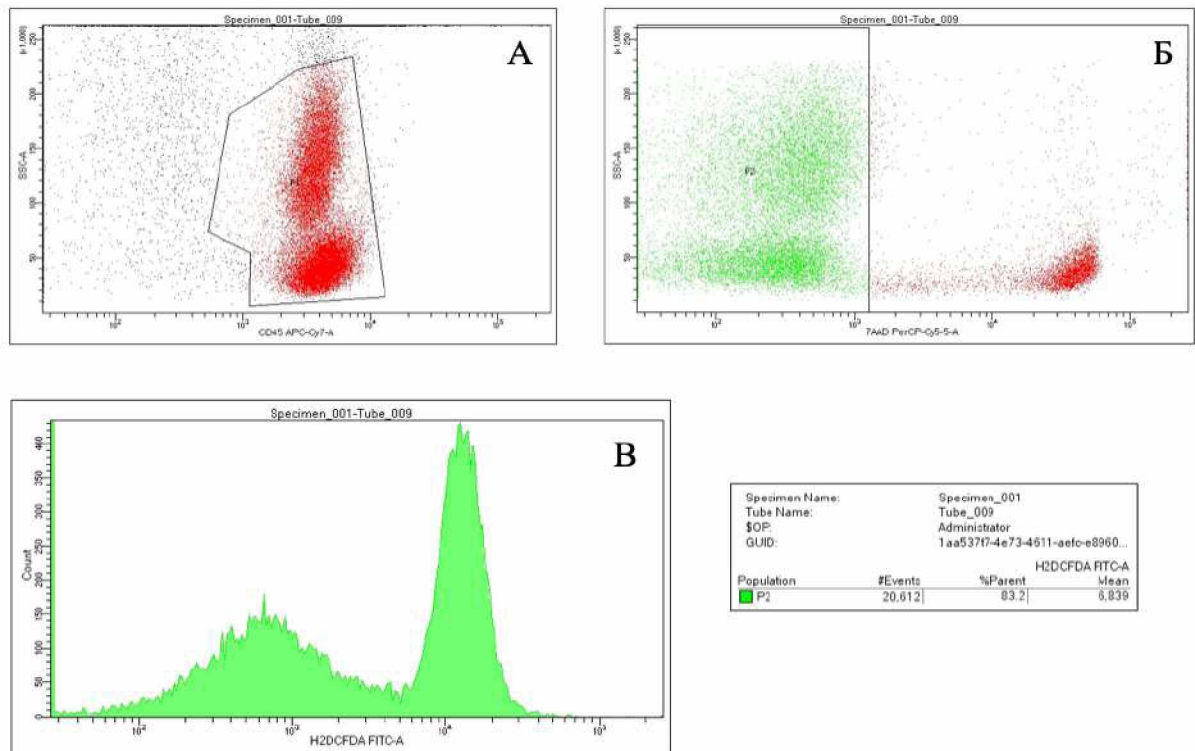


Рисунок 3.3. Репрезентативні цитограма (а), життєздатність клітин (б) і гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїн) (в) лейкоцитів щура №5 групи 3.

У четвертій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (табл.3.1) генерація АФК лейкоцитами не відрізнялася від показників, що були отримані у інтактних тварин та у експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу. Генерація АФК лейкоцитами у експериментальних тварин із імплантованою хірургічною сіткою з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) статистично відрізнялася від показників, отриманих у щурів без

імплантації хірургічної сітки на 24,9 % відповідно.

Достовірна різниця в значеннях СІФ ДХФ лейкоцитів спостерігалася між показниками у щурів з імпантованою хірургічною сіткою з покриттям на основі оксиду танталу та з покриттям на основі нітриду танталу, а саме на 32,06 %. Генерація АФК лейкоцитами крові була вище у експериментальних тварин із імпантованими хірургічними сітками з покриттям на основі нітриду танталу.

Було проаналізовано репрезентативні гістограми лейкоцитів щура №2 групи 4 (рис 3.4).

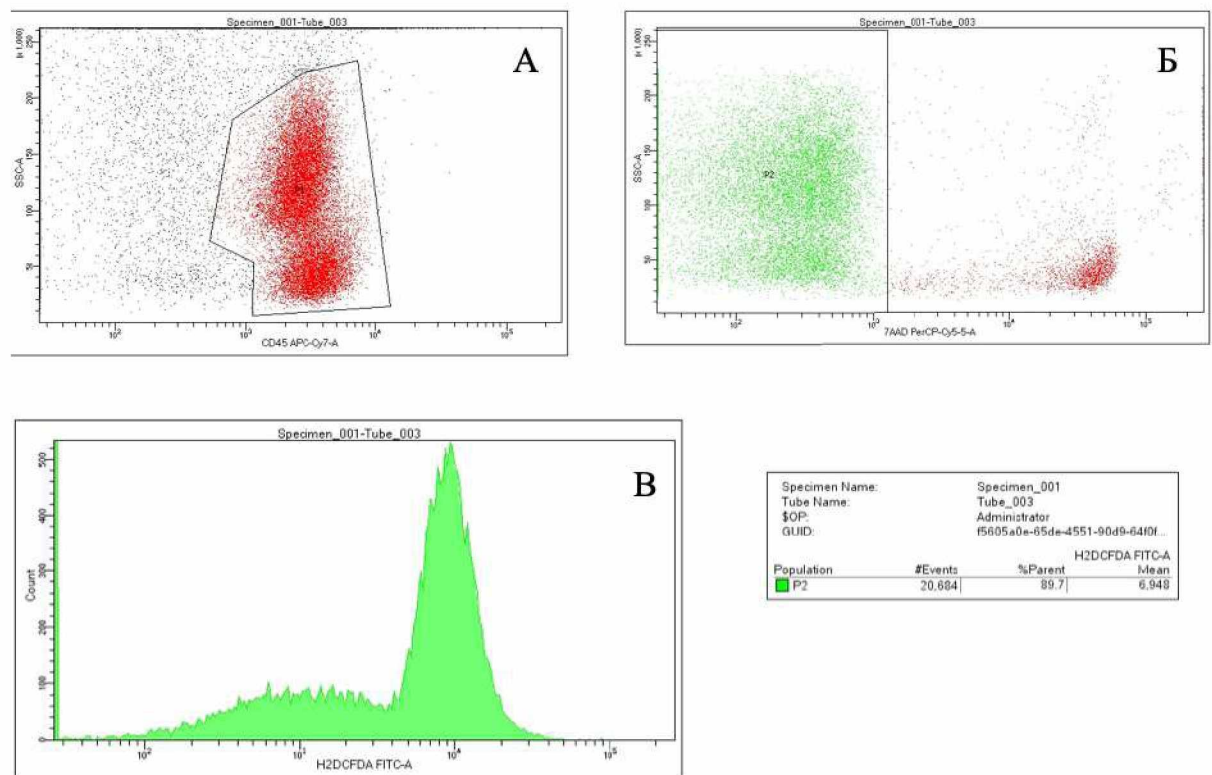


Рисунок 3.4. Репрезентативні цитограма (а), життєздатність клітин (б) і гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїн) (в) лейкоцитів щура №2 групи 4.

Середня інтенсивність флюоресценції ДХФ дорівнювала 6,948 у.о. Отримані дані вказують на те, що хірургічні сітки з покриттям танталу та оксиду танталу демонструють незначну генерацію АФК лейкоцитами у порівнянні з групою 2, де експериментальним тваринам не проводилась імплантація хірургічної сітки. Також, отримані результати вказують на те,

що покриття на основі танталу та оксиду танталу, нанесені на хірургічні сітки, не сприяють генерації АФК лейкоцитами, що далі ми підтвердили дослідженням вмісту прозапальних інтерлейкінів у сироватці крові.

Значна генерація АФК лейкоцитами крові спостерігалась у щурів 5 експериментальної групи, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі нітриду танталу і була статистично на 129,6 % вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин. У порівнянні з групою тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації хірургічних сіток, генерація АФК лейкоцитами крові була вище на 64,9 % відповідно.

При аналізі репрезентативної гістограми щура №6 групи 5 (рис 3.5) СІФ ДХФ дорівнювала 7,522 у.о.

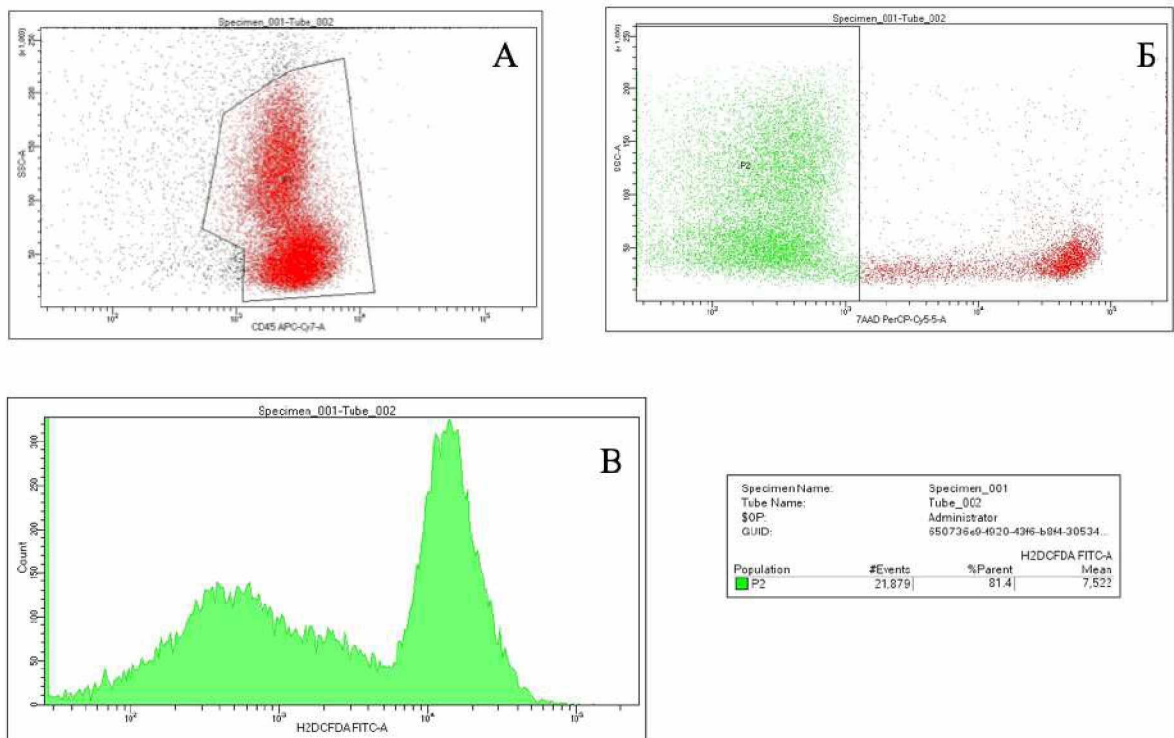


Рисунок 3.5. Репрезентативні цитограма (а), життєздатність клітин (б) і гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїн) (в) лейкоцитів щура №6 групи 5.

Отримані результати вказують на те, що при імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі нітриду танталу спостерігається генерація АФК ще й на 28 добу після оперативного втручання, що призводить до розвитку

оксидативного стресу в організмі експериментальних тварин, який надалі впливає на структурно - функціональний стан клітин.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група б) генерація АФК лейкоцитами крові була статистично вище на 117,8 %, у порівнянні із результатами у інтактних тварин. У порівнянні з групою тварин, якій проводилося хірургічне втручання без імплантації хірургічних сіток, генерація АФК в крові була вище на 56,4 % відповідно.

При аналізі даних репрезентативної цитограми щура №4 групи б (рис 3.6) середня інтенсивність флюоресценції ДХФ лейкоцитів дорівнював 7,210 у.о.

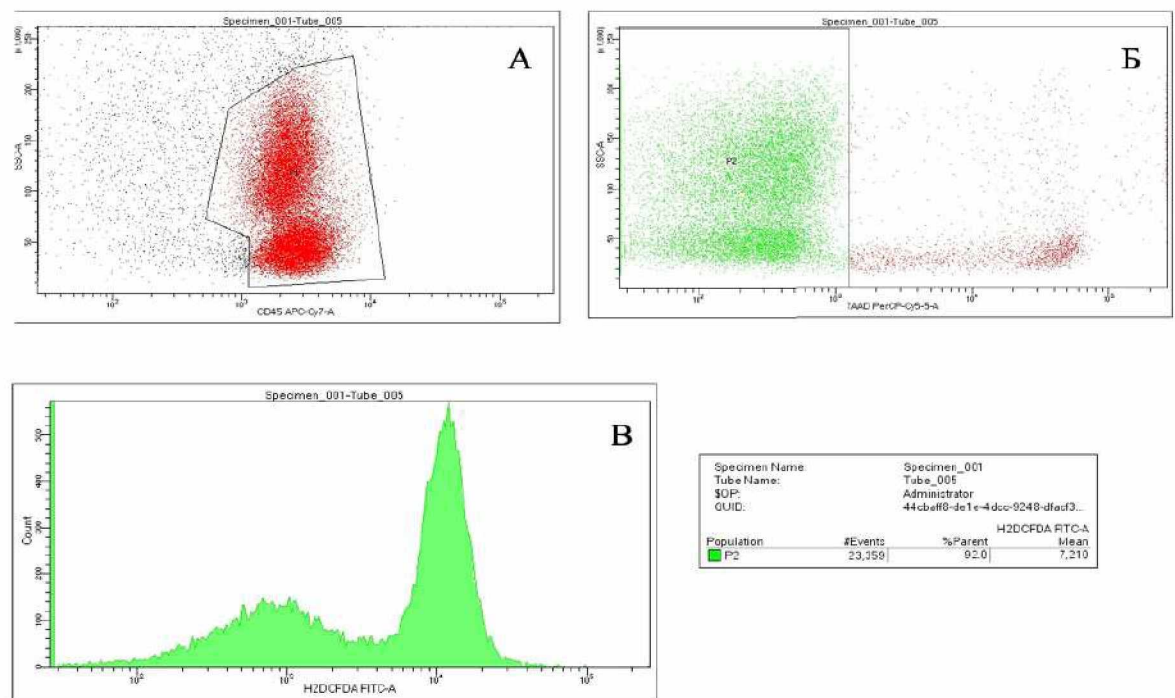


Рисунок 3.6. Репрезентативні цитограма (а), життєздатність клітин (б) і гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїн) (в) лейкоцитів щура №4 групи б.

У проведеному нами експериментальному дослідженні ми встановили, що після імплантації хірургічної сітки без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу було визначено гіперпродукцію АФК лейкоцитами крові щурів, що призводило до розвитку оксидативного

стресу, що ми підтвердили підвищеним вмістом 8-ізопростану.

За даними наукової літератури відомо, що найбільш значна генерація активних форм кисню відбувається у нейтрофілах крові за умов експресії НАДФН-оксидази, відповідального ферменту за «кисневий вибух» при фагоцитозі. Саме нейтрофіли є активними генераторами АФК, при продукції яких за участі НАДФН-оксидази в фагоцитах відбувається антибактеріальний захист організму. При застосуванні хірургічних сіток з покриттям на основі нітриду танталу та без покриття відбувається генерація АФК лейкоцитами. Це може сприяти надлишковій продукції прозапальних цитокінів (ІЛ-1 бета, ІЛ-6 та інші), що провокує прогресування запальних процесів. При активації процесів ліпідної пероксидації може виникати зниження активності АОС та розвитку оксидативного стресу, що в подальшому ми підтверджували визначенням вмісту 8-ізопростану та показників антиоксидантного захисту.

Розвиток оксидативного стресу може сприяти порушенню структурно-функціонального стану клітинних мембран, розвитку апоптозу та некрозу клітин, призводити до розвитку запальних та спайкових процесів.

Тоді як після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток з покриттям на основі танталу експериментальним тваринам генерації АФК лейкоцитами крові щурів у післяопераційному періоді не спостерігалось, що також може свідчити про те, що покриття на основі танталу та оксиду танталу не стимулюють ВРО. Танталове покриття хірургічних сіток відносно гальмує генерацію АФК, подальший апоптоз клітин, зокрема лейкоцитів, які беруть участь в імунному статусі організму, зокрема, імунній відповіді на імплантацію стороннього тіла.

Застосування танталу та оксиду танталу як основи покриттів хірургічних сіток є одним із ключових факторів, завдяки чому прискорюється загоєння післяопераційної рани та значно скорочується період реконвалесценції, а також запобігається розвиток спайкового та гнійно-септичного процесів.

3.2 Дослідження життєздатності лейкоцитів та видів клітинної смерті в крові експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних

Наступним етапом обґрунтування застосування хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних в герніопластиці було проаналізовано системний вплив даних матеріалів на організм експериментальних тварин. Визначення життєздатності та видів клітинної смерті лейкоцитів має важливе значення для імунної регуляції організму та підтримки гомеостазу. Розуміння цих процесів необхідно для діагностики патологічних процесів і розробки відповідних терапевтичних заходів. Відомо, що основними видами загибелі лейкоцитів крові є апоптоз, некроз і піроптоз, а отримані дані з наукової літератури демонструють додаткові види, такі як некроптоз і залежна від аутофагії смерть клітин [132].

Здатність сучасного методу - проточної цитофлюорометрії розрізнити різні типи загибелі клітин - апоптоз, некроз, аутофагію тощо - підкреслює її універсальність для науково - клінічних досліджень. Методологічний підхід до визначення цих процесів залежить від використання специфічних маркерів, що виявляють основні біохімічні та морфологічні зміни, характерні для кожного виду клітинної загибелі. Апоптоз, який характеризується екстерналізацією фосфатидилсерину та фрагментацією ДНК, можна виявити за допомогою фарбування Анексином V та йодидом пропідію, що розмежує ранню та пізню стадії апоптотичної смерті клітин. Некроз, навпаки, ідентифікується за порушенням цілісності мембрани, що виявляється за допомогою поглинання йодиду пропідію або 7-аміноактиноміцину D (7-AAD). Аутофагія вказує на спробу клітин підтримувати внутрішній гомеостаз під час стресу через деградацію клітинних компонентів [133,134].

Апоптоз, або запрограмована смерть клітини, відіграє ключову роль у підтримці функціональності імунної системи та запобіганні виникненню

аутоімунних реакцій шляхом інактивації пошкоджених лейкоцитів. Для апоптозу характерні морфологічні та біохімічні зміни: зморщування клітин, конденсація хроматину, що призводить до утворення гетерохроматину, фрагментація ДНК та екстерналізація фосфатидилсерину як раннього маркера апоптозу, на поверхню клітини. Анексин V зв'язується з фосфатидилсерином у зовнішньому шарі мембран клітин.

З даних сучасної наукової літератури відомо, що апоптоз відбувається двома шляхами: внутрішнім (мітохондріальним) шляхом, що запускається внутрішніми сигналами, такими як пошкодження ДНК або оксидативний стрес, і зовнішнім шляхом, ініційованим зв'язуванням лігандів із рецепторами на поверхні клітини [135]. Обидва шляхи поєднуються при активації каспаз, сімейства цистеїнових протеаз, які активують загибель клітин шляхом розщеплення специфічних клітинних субстратів.

На пізній стадії апоптозу Анексин V зв'язує фосфатидилсерин на зовнішньому шарі цитоплазматичної мембрани, у той же час флюорохром 7-AAD зв'язується безпосередньо з дволанцюговою ДНК, проникає через пошкоджену цитоплазматичну мембрану та використовується для фарбування нежиттєздатних клітин.

Таким чином, 7-AAD використовується для відділення життєздатних клітин від нежиттєздатних.

Некроз - це патологічний стан, при якому відбувається денатурація внутрішньоклітинних протеїнів і ферментативне перетравлення змертвілих клітин. Він характеризується збільшенням об'єму клітин (онкоз), набряком органел, розривом цитоплазматичної мембрани та подальшим вивільненням внутрішньоклітинного вмісту, що призводить до запалення [136]. Довгий час дослідники вважали, що на відміну від апоптозу, некроз не має регуляторного механізму. Однак, останні дослідження регульованих шляхів некрозу, таких як некроптоз і фероптоз, свідчать про те, що певні некротичні процеси генетично контролюються і відіграють значну роль в імунних реакціях [137].

Ще однією формою запрограмованої клітинної смерті є піроптоз, який на відміну від апоптозу та некрозу, в основному пов'язана з імунною відповіддю на розвиток інфекційного процесу. Він характеризується утворенням газдермінових пор у клітинній мембрані, що призводить до набряку клітин, розриву мембрани та вивільнення прозапальних цитокінів, таких як IL-1 β та IL-18. Піроптоз ініціюється розвитком запального процесу, який може бути викликаний молекулярними моделями, пов'язаними з патогеном (PAMP) або молекулярними моделями, пов'язаними з пошкодженням (DAMP), що призводить до розщеплення газдерміну D каспазою-1 та активації запальної реакції [138].

Некроптоз - це регульована форма некрозу, яка має спільні риси як з некрозом, так і з апоптозом. Цей процес опосередковується рецепторно-взаємодіючими протеїнкіназами (RIPK1 і RIPK3) і доменоподібною псевдокіназою кінази змішаної лінії (MLKL), що призводить до розриву клітинної мембрани та запалення [139].

Клітинним процесом деградації та трансформації цитоплазматичних компонентів є аутофагія, що може за певних умов призвести до загибелі клітини. Цей тип клітинної смерті характеризується значною аутофагічною вакуолізацією цитоплазми і вважається регульованою формою клітинної смерті, відмінною від апоптозу та некрозу, хоча його точні механізми та роль в аутофагії залишаються предметом сучасних досліджень.

У наших попередніх дослідженнях було визначено надмірну продукцію АФК лейкоцитами, доведено роль нейтрофільних лейкоцитів крові у гіперпродукції АФК у щурів з імплантацією хірургічних сіток із покриттям на основі нітриду танталу та застосування хірургічних сіток для імплантації без покриття.

При аналізі видів клітинної смерті лейкоцитів ми спиралися на те, що найбільший відсоток лейкоцитів є нейтрофіли, що приймають безпосередню участь у імунній відповіді організму, зокрема реагують на хірургічне втручання та імплантацію поліпропіленових хірургічних сіток із

різними видами покриттів. Нейтрофіли дозрівають у кістковому мозку, циркулюють в крові протягом доби й далі мігрують до тканин, де живуть декілька днів.

Інтенсивна генерація АФК може призводити до порушень життєздатності лейкоцитів та їхньої загибелі. Однак, у сучасній науковій літературі ми не знайшли інформації щодо цього. Нами було проведено гейтування та визначено життєздатні клітини (Анексин V⁻, 7-AAD⁻), ранньоапоптичні лейкоцити (Анексин V⁺, 7-AAD⁻), пізньоапоптичні клітини (Анексин V⁺, 7-AAD⁺) та некротичні клітини (Анексин V⁻, 7-AAD⁺) [203].

Таким чином, в існуючих джерелах мало що відомо про оцінку визначення життєдіяльності та видів клітинної смерті лейкоцитів периферичної крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із різними видами біосумісних покриттів танталу та його похідних, що й обумовило актуальність нашого дослідження.

У крові інтактних тварин (група 1) визначено превалювання відсотку життєздатних лейкоцитів над клітинами, що знаходяться в стадії раннього, пізнього апоптозу та некрозу.

На рис.3.7 представлено цитограму з візуалізацією життєздатних лейкоцитів та різні види клітинної смерті лейкоцитів щура №3 групи 1 (96,9 % життєздатних лейкоцитів; 0,91 % - ранньоапоптичних клітин; 1,07% - пізньоапоптичних клітин та 1,12 % - некротичних клітин). Сумовані показники в інтактних тварин (n=6) будемо використовувати як референтні.

У результаті проведених досліджень за допомогою проточної цитометрії з використанням ФІТЦ-міченого Анексину V (Annexin V FITC) та 7-AAD на 28 день після хірургічного втручання не було виявлено суттєвих змін в життєздатності та видах клітинної смерті лейкоцитів крові між інтактними тваринами та групою тварин, яким було проведено

хірургічне втручання без імплантації поліпропіленової хірургічної сітки (табл 3.2).

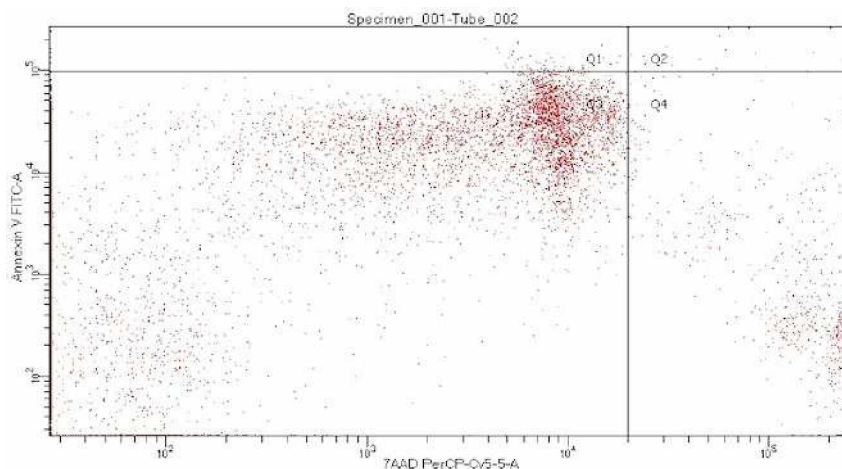


Рис. 3.7. Типова цитограма з візуалізацією життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів крові щура №3 групи 1.

На рис 3.8 представлено типову цитограму щура №5 групи 2. При оцінці життєздатності лейкоцитів та видів клітинної смерті даної експериментальної тварини без імплантації хірургічної сітки було визначено: 96,4 % життєздатних лейкоцитів; 1,1 % - ранньоапоптичних клітин; 1,3% - пізньоапоптичних клітин та 1,2 % - некротичних клітин.

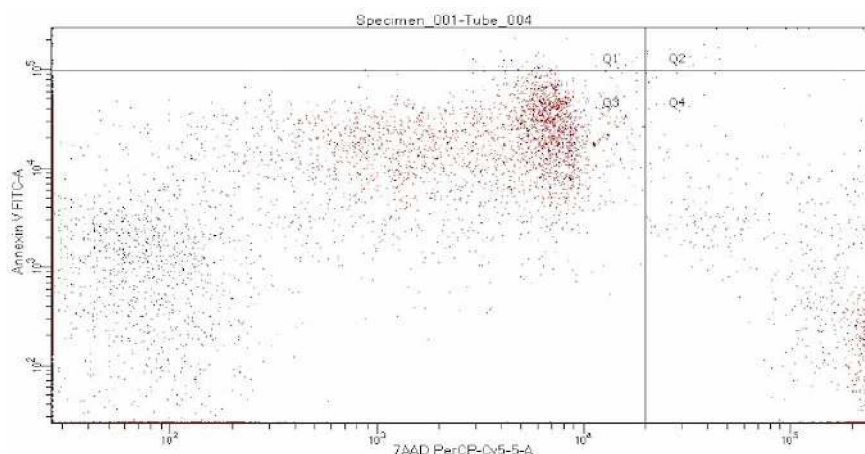


Рис. 3.8. Типова цитограма з візуалізацією життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів крові щура №5 групи 2.

Таблиця 3.2.

Аналіз життєздатних, ранньоапоптичних, пізноапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів крові експериментальних та інтактних тварин (Me [25-ий перцентиль; 75-ий перцентиль])

Групи тварин	Кількість клітин, %			
	Annexin V ⁻ 7AAD ⁻ (життєздатні клітини)	Annexin V ⁺ 7AAD ⁻ (ранньо-апоптичні клітини)	Annexin V ⁺ 7AAD ⁺ (пізно-апоптичні/некротичні клітини)	Annexin V ⁻ 7AAD ⁺ (некротичні клітини)
Група 1 Інтактна група (n=6)	97,1% [95,55; 98,0]	0,85% [0,5; 1,1]	0,9% [0,6; 1,25]	0,9% [0,7; 1,15]
Група 2 Без імплантації (n=6)	96,5% [94,85; 97,5]	0,95% [0,7; 1,2]	1,0% [0,7; 1,35]	1,1% [0,9; 1,35]
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	93,7% [92,3; 94,9] p _{1,6} <0,0001 p ₂ =0,0006 p ₅ <0,0001	1,2% [0,8; 1,5] p _{5,6} <0,0001	2,1% [1,7; 2,9] p ₁ =0,0007 p ₂ =0,0012 p ₆ <0,0001	2,2% [1,8; 2,8] p ₁ =0,0002 p ₂ =0,0007 p ₃ =0,008 p _{5,6} <0,0001
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	92,8% [90,6; 93,2] p _{1,2} <0,0001 p _{5,6} <0,0001	1,8% [1,0; 2,0] p ₁ =0,0262 p ₅ <0,0001 p ₆ <0,001	2,3% [1,9; 3,1] p ₁ =0,0002 p ₂ =0,0004 p ₆ <0,0001	3,1% [2,8; 3,8] p _{1,2} <0,0001 p ₆ <0,0001
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	84,2% [81,8; 85,4] p _{1,2} <0,0001 p ₆ =0,0005	5,9% [5,5; 6,7] p _{1,2} <0,0001 p ₆ <0,001	4,5% [4,1; 5,3] p _{1,2} <0,0001 p ₆ <0,0055	4,7% [3,8; 5,0] p _{1,2} <0,0001 p ₆ <0,0001
Група 6 Без покриття (n=7)	80,9% [79,3; 81,9] p _{1,2} <0,0001	5,3% [4,6; 5,8] p _{1,2} <0,0001	5,8% [5,2; 6,4] p _{1,2} <0,0001	7,8% [6,8; 8,2] p _{1,2} <0,0001

Примітка: p₁<0,05 - значима відмінність у порівнянні з групою 1; p₂<0,05 - значима відмінність із групою 2; p₃<0,05 - значима відмінність у порівнянні з групою 4; p₅<0,05 - значима відмінність у порівнянні з групою 5; p₆<0,05 - значима відмінність у порівнянні із групою 6.

Аналіз життєздатності та видів клітинної смерті лейкоцитів у групі експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі танталу (група 3) продемонстрував незначне зниження життєздатних (Анексин V⁻/7-AAD⁻) клітин у порівнянні з результатами у інтактних тварин та групі експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації, а саме на 3,4 % та 2,8% відповідно (табл. 3.2). У той же час, відсоток пізньоапоптичних клітин (Анексин V⁺/7-AAD⁻) та некротичних (Анексин V⁻/7-AAD⁺) клітин був вищим всього на 1,2 % та 1,3 % у порівнянні із результатами у інтактних тварин, та на 1,1 % та 1,1 % у групі експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічних сіток. Стосовно ранньоапоптичних лейкоцитів, то вони не відрізнялися від показників у інтактних тварин та тварин без імплантації.

На рис. 3.9 представлено типову цитограму щура №3 групи 3 з візуалізацією життєздатних клітин (93,5 %), ранньоапоптичних (1,3 %), пізньоапоптичних (2,6 %) та некротичних (2,6 %) лейкоцитів.

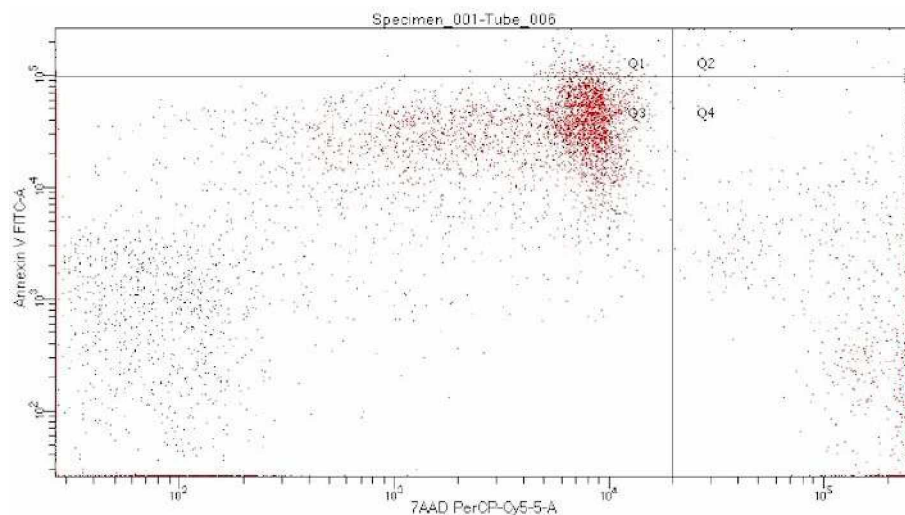


Рис. 3.9. Типова цитограма з візуалізацією життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів крові щура №3 групи 3.

У порівнянні із результатами групи експериментальних тварин, яким було проведено імплантацію хірургічної сітки з покриттям на основі

оксиду танталу (група 4) відсоток некротичних клітин був на 0,9 % нижче.

У порівнянні із результатами, отриманими у групі експериментальних тварин, яким було проведено імплантацію хірургічної сітки з покриттям на основі нітриду танталу відсоток Анексин V⁻/7-AAD⁻ клітин статистично був на 9,5 % вище. Відсоток ранньоапоптичних (Анексин V⁺/7 AAD⁻) клітин був на 4,7 % нижче.

Порівняльний аналіз також продемонстрував, що відсоток Анексин V⁺/7-AAD⁺ та Анексин V⁻/7 AAD⁺ клітин були на 2,4 % та 2,5 % нижче, порівняно із відповідними показниками у експериментальних тварин із імплантованою хірургічною сіткою з покриттям нітриду танталу.

Проведений порівняльний аналіз із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку без покриття показав, що відсоток життєздатних лейкоцитів статистично був на 12,8 % вище у щурів з імплантованою хірургічною сіткою з покриттям на основі танталу. Відсоток ранньоапоптичних (Анексин V⁺/7-AAD⁻) клітин статистично був на 4,1 % нижче. У той же час, відсоток Анексин V⁺/7-AAD⁺ клітин був на 3,7 % нижче, та відсоток некротичних клітин статистично також був на 5,6% нижче.

Аналіз видів клітинної смерті у групі експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) продемонстрував достовірне зниження життєздатних лейкоцитів у порівнянні з результатами у інтактних тварин та у групі експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації, на 5,3 % та 3,7 % відповідно. Відсоток Анексин V⁺/7-AAD⁻ (ранньоапоптичних) лейкоцитів був на 0,95 % вище у порівнянні з інтактними тваринами. У той же час, відсоток Анексин V⁺/7-AAD⁺ був на 1,4 % вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин, та на 1,3 % вище у порівнянні із результатами у експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації. Відсоток некротичних клітин був вище на 2,2 % у порівнянні із результатами у інтактних тварин,

та на 2,0 % вище у порівнянні із результатами у експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

У порівнянні з результатами групи експериментальних тварин, яким було проведено імплантацію хірургічної сітки з покриттям на основі нітриду танталу, відсоток життєздатних клітин статистично був на 7,6 % вище відповідно. Відсоток Анексин V⁺/7-AAD⁻ клітин статистично був на 4,1 % нижче.

У порівнянні з результатами групи експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку без покриття (група 6) відсоток Анексин V⁻/7-AAD⁻ клітин статистично був на 11,9 % вище. Відсоток Анексин V⁺/7-AAD⁻ клітин статистично був на 3,5 % нижче. У той же час, відсоток Анексин V⁺/7-AAD⁺ клітин був на 3,5 % нижче, та Анексин V⁻/7-AAD⁺ клітин статистично був на 4,7% відповідно.

Типову цитограму лейкоцитів щура №6 групи 4, якому було проведено хірургічне втручання з імплантацією сітки з покриттям на основі танталу представлено на рис. 3.10. Спостерігається: життєздатних лейкоцитів - 91,8%; ранньоапоптотичних - 1,9 %; пізноапоптотичних - 2,8 %; некротичних - 3,5 %.

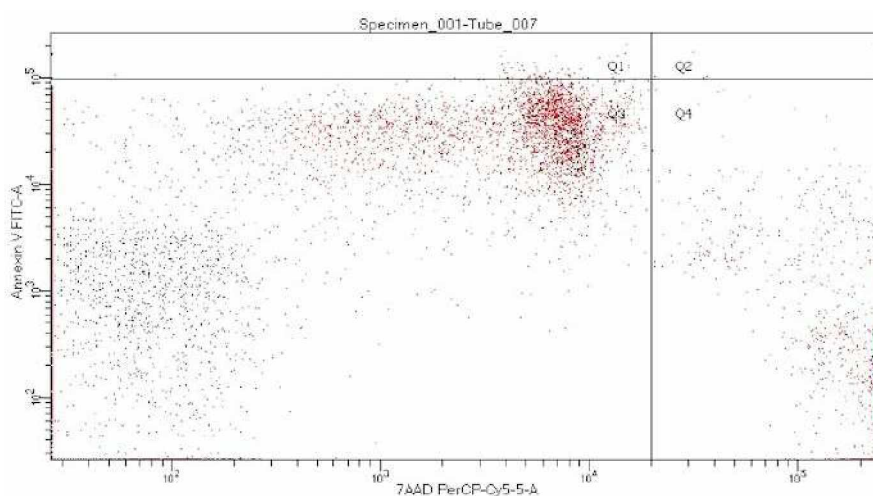


Рис. 3.10. Типова цитограма з візуалізацією життєздатних, ранньоапоптотичних, пізноапоптотичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів крові щура №6 групи 4.

Аналіз видів клітинної смерті у групі експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) статистично продемонстрував зниження життєздатних лейкоцитів у порівнянні з результатами у інтактних тварин та у групі експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації на 12,9 % та 12,3 % відповідно. Відсоток Анексин V⁺/7-AAD⁻ клітин статистично був на 5,05 % вище у порівнянні з результатами у інтактних тварин та на 4,95 % вище у порівнянні з групою у експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації. У той же час, відсоток пізньоапоптичних був на 3,6 % вище у порівнянні з результатами інтактних тварин та на 3,5 % у порівнянні з групою експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації. Відсоток некротичних лейкоцитів був на 3,8 % вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин та на 3,6 % вище у порівнянні з результатами у експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації.

На рис. 3.11 представлено типову цитограму щура №1 групи 5 з візуалізацією життєздатних клітин (85,2 %), ранньоапоптичних (6,3 %), пізньоапоптичних (4,6 %) та некротичних (3,9 %) лейкоцитів.

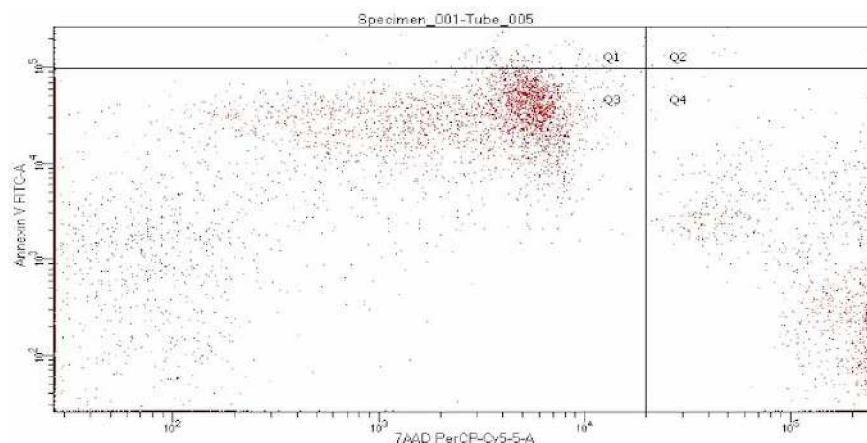


Рис. 3.11 Типова цитограма з візуалізацією життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів крові щура №1 групи 5.

У порівнянні із результатами групи експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку без покриття (група б) показав, що відсоток життєздатних лейкоцитів статистично був на 3,3 % вище відповідно. Відсоток Анексин $V^{-}/7\text{-AAD}^{-}$ клітин тільки на 0,6 % був вище. У той же час, відсоток Анексин $V^{+}/7\text{-AAD}^{+}$ клітин був на 1,3 % нижче, та Анексин $V^{-}/7\text{-AAD}^{+}$ клітин статистично був на 3,1 % нижче.

Аналіз видів клітинної смерті у групі експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку без покриттям (група б) статистично продемонстрував зниження життєздатних (Анексин $V^{-}/7\text{-AAD}^{-}$) лейкоцитів у порівнянні із результатами у інтактних тварин та у групі експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації, на 16,2 % та 15,6 % відповідно.

На рис. 3.12 представлено типову цитограму щура №2 групи б з візуалізацією життєздатних клітин (80,3 %), ранньоапоптичних (5,5 %), пізньоапоптичних (6,2 %) та некротичних (8,0 %) лейкоцитів.

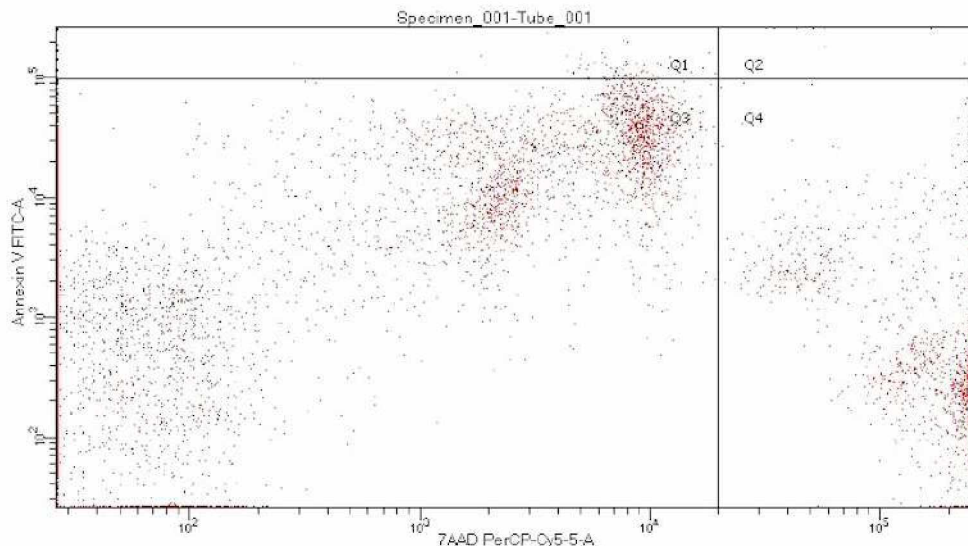


Рис. 3.12. Типова цитограма з візуалізацією життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів крові щура №2 групи б.

Відсоток Анексин $V^{+}/7\text{-AAD}^{-}$ клітин статистично був на 4,45% вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин та на 4,35% вище у

порівнянні з результатами експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації. У той же час, відсоток пізньоапоптичних (Анексин V⁺/7-AAD⁺) лейкоцитів був статистично був на 4,9% вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин та на 4,8% вище у порівнянні з результатами експериментальних тварин без імплантації хірургічної сітки. Відсоток некротичних (Анексин V⁻/7-AAD⁺) клітин був на 6,9% вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин та на 6,7% у порівнянні з групою без імплантації хірургічної сітки.

Таким чином, проведене нами комплексне наукове дослідження виявило, що застосування хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу характеризується імунорегулюючими властивостями: значно не впливає на відсоток життєздатних лейкоцитів, а саме має антиапоптотичну дію, у порівнянні з хірургічними сітками без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу; підвищує активність ферменту першого ланцюга антиоксидантного захисту - супероксиддисмутази 1, каталази на тлі зниження 8-ізопростану - основного маркера оксидативного стресу.

У проведеному нами експериментальному дослідженні ми встановили, що імплантація поліпропіленових хірургічних сіток без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу призводить до зниження відсотку життєздатних лейкоцитів крові щурів у порівнянні з отриманими результатами у інтактних тварин внаслідок активації процесів апоптозу. Про це свідчить значне збільшення відсотку пізньоапоптичних та некротичних клітин у даних групах. Активація процесів раннього та пізнього апоптозу, некрозу лейкоцитів при застосуванні хірургічних сіток із покриттям на основі нітриду танталу та без покриття спричинена, на нашу думку, інтенсивною генерацією лейкоцитами АФК, про що було попередньо заявлено.

Генерація АФК із подальшим порушенням структурно-функціональних характеристик клітинних мембран, порушення балансу

прооксидантно-антиоксидантного захисту сприяє індукції процесів апоптозу-некрозу лейкоцитів. З нашої точки зору, АФК сприяють руйнуванню мембран мітохондрій, вихід цитохрому с, фактору запуску апоптозу, відбувається каскад каспазних реакцій у цитоплазмі клітин з подальшою загибеллю клітин.

Відомо, що саме мітохондрії є джерелом вільних електронів, формування АФК, що призводить до активації апоптозу. Відомо, що АФК можуть активувати апоптоз шляхом генотоксичного впливу на ДНК та активацію гену p53, що далі в наступному розділі підтверджується імуногістохімічними дослідженнями. Активація каспаз також сприяє загибелі нейтрофілів. Тому ініціація внутрішнього шляху апоптозу поряд із зовнішнім призводять до апоптозу/некрозу лейкоцитів.

Тоді ж як після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу не викликало суттєвого зниження життєздатних лейкоцитів крові у експериментальних тварин, що узгоджується з численними дослідженнями, що підтверджують унікальну біосумісність танталу.

Виявлене у нашому дослідженні значне підвищення рівня 8-ізопростану, що є продуктом вільнорадикального окиснення арахідонової кислоти, а саме тому, маркером оксидативного стресу, у крові експериментальних тварин із імплантованою хірургічною сіткою без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу на фоні зниження загальної антиоксидантної активності дозволяє зробити висновок, що імплантація даних типів сіток супроводжується розвитком оксидативного стресу.

За матеріалами розділу опубліковано:

[197]. Nakonechna O.A, Smachylo R.M, Dudin S.V., Kyslov O.V. (2024). Reactive oxygen species generation by blood leukocytes of rats after implantation of surgical mesh with tantalum-based coating. Медична та

клінічна хімія, 1 (26), 5-10. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14591>.

[200]. Кислов О.В. Генерація активних форм кисню у лейкоцитах щурів після імплантації матеріалів з покриттям на основі танталу. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 24-26 січня 2022 р.), С. 376-379.

[201]. Кислов О.В. Порівняльна характеристика генерації активних форм кисню у лейкоцитах щурів після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та на основі титану. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 13-15 лютого 2023 р.), С. 174-177.

[203]. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В., Янковська Д.О. Види клітинної життєздатності лейкоцитів крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Міжнародна науково-практична конференція «Стовбурові клітини для моделювання та лікування захворювань» (м. Краків, Польща, 29-30 листопада 2023 р.), С. 101-103.

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ЛІПІДНОЇ ПЕРОКСИДАЦІЇ, СТАНУ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ПОКАЗНИКІВ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ В КРОВІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ ХІРУРГІЧНИХ СІТОК З ПОКРИТТЯМ НА ОСНОВІ ТАНТАЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ

4.1 Оцінка вираженості процесів ліпідної пероксидації у експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних

За умов застосування поліпропіленових хірургічних сіток можуть розвиватися у відповідь на інородне тіло різноманітні біологічні процеси, зокрема запальні, що характеризуються комплексною взаємодією між організмом тварини, бактеріями та оточуючим середовищем. Однією з таких реакцій організму є генерація АФК нейтрофільним лейкоцитами, що відіграють роль сигнальних молекул, сприяють пошкодженню ендотелію судин та міграції клітин імунної системи до зони імплантації сітки. За умов гіперпродукції АФК на тлі недостатності антиоксидантної системи виникає розвиток оксидативного стресу.

Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) — це біохімічний процес, який значно впливає на цілісність і функцію клітин, особливо в контексті імплантації біоматеріалів, таких як хірургічні сітки з різними видами покриттів. Цей процес включає окислювальну деградацію ліпідів, коли вільні радикали, особливо активні форми кисню (АФК), забирають електрони з ліпідів у клітинних мембранах [140]. Дана шкідлива дія ініціює ланцюгову реакцію, яка може пошкодити клітинні мембрани та інші клітинні структури, що призводить до дисфункції або смерті клітини, зокрема апоптозу та некрозу. Оцінка вираженості процесів перекисного окислення ліпідів має вирішальне значення в контексті використання

хірургічних імплантатів, оскільки дає уявлення про запальні та окислювальні стресові реакції, викликані даними матеріалами [141].

Перекисне окислення ліпідів призводить до утворення кількох кінцевих продуктів, включаючи малоновий діальдегід (MDA), 4-гідроксиноненал (4-HNE) і 8-ізопростан [142]. Кінцеві продукти ПОЛ можуть далі реагувати з клітинними компонентами, що призводить до порушення клітинних функцій і сприяє патогенезу різних захворювань. Під час імплантації хірургічної сітки реакція організму на чужорідний матеріал може посилити оксидативний стрес, що робить визначення продуктів перекисного окислення ліпідів у біологічному матеріалі важливим показником біосумісності та запальної відповіді [143].

Серед маркерів перекисного окислення ліпідів 8-ізопростан відрізняється своєю стабільністю та надійністю як ранній маркер оксидативного стресу [144].

Відомо, що 8-ізопростан - це простагландиноподібна сполука, що належить до класу ізопростанів F₂ та утворюється за рахунок перекисного окислення арахідонової кислоти, каталізується вільними радикалами. Даний біохімічний маркер синтезується незалежно від циклооксигеназного шляху, який генерує простагландини, що робить його специфічним маркером перекисного окислення ліпідів, викликаного АФК. На відміну від інших маркерів, які можуть синтезуватися різними шляхами та виконувати безліч функцій в організмі, утворення 8-ізопростану виключно вказує на окислювальне пошкодження ліпідів [145].

Згідно з сучасними науковими дослідженнями, 8-ізопростан є одним із найкращих біомаркерів оксидативного стресу *in vivo* [146]. Кількісне визначення вмісту 8-ізопростану в біологічному матеріалі в контексті імплантації хірургічної сітки вирішує наступні завдання. По-перше, дозволяє оцінити біосумісність сітки, оскільки підвищений вміст цього маркера вказує на значну інтенсивність оксидативного стресу і потенційну цитотоксичність. По-друге, порівняння вмісту 8-ізопростану в

крові при використанні різних сітчастих покриттів може допомогти із вибором матеріалів, які мінімізують окисне пошкодження, підвищує безпеку та ефективність використання хірургічних імплантатів [147].

Розробка хірургічних сітчастих покриттів, які можуть знизити інтенсивність перекисного окислення ліпідів, є значним прогресом у біотехнології імплантації. Біосумісні покриття, які мають антиоксидантні властивості або призначені для вивільнення протизапальних агентів, можуть безпосередньо зменшувати утворення АФК, тим самим знижує ризик перекисного окислення ліпідів та розвитку оксидативного стресу [148]. Крім того, матеріали, які за своєю природою протистоять окислювальній деградації, можуть додатково мінімізувати вплив імплантації хірургічних сіток на рівні клітинного оксидативного стресу.

Тому актуальним є сучасне прагнення до вдосконалення хірургічних сітчастих покриттів, спрямоване на вирішення проблеми оксидативного стресу, зокрема зниження інтенсивності перекисного окислення ліпідів шляхом інтеграції передового матеріалознавства з розумінням біологічних реакцій організму у відповідь на імплантацію чужорідного матеріалу. Інновації в цій галузі зосереджені на створенні біосумісних покриттів, які не тільки протистоять окисному стресу, але й активно сприяють антиоксидантному захисту організму. Біосумісні покриття, що регулюють відповідні біологічні реакції організму, такі як баланс оксидантно - антиоксидантної системи організму або пряма нейтралізація АФК, є багатообіцяючим підходом у попередженні розвитку запальних процесів. Ці покриття можуть включати біоактивні молекули, які, стимулюють клітинні антиоксидантні шляхи або забезпечують резервуар антиоксидантів, які можуть вивільнятися у відповідь на підвищення рівня АФК [149].

Будь-яка зміна концентрації біомаркерів стану оксидантної системи, зокрема 8-ізопростану, може вказувати на розвиток патологічних станів, зокрема оксидативного стресу, що може мати суттєвий вплив на

життєздатність клітин та створювати дисбаланс в оксидантно-антиоксидантній системі організму [195, 202].

За допомогою імуноферментного аналізу було досліджено основний показник інтенсивності ліпідної пероксидації в крові - 8-ізопростан, результати представлено в табл. 4.1.

У інтактних тварин (група 1) середнє значення вмісту 8-ізопростану складає 11,25 [10,33; 13,05] пг/мл, дані значення будуть використані в якості контрольних значень.

У результаті проведених досліджень на 28 добу було визначено, що вміст раннього маркера ПОЛ та оксидативного стресу 8-ізопростану в крові експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2) статистично підвищувався на 19,6 % у порівнянні з отриманими результатами у інтактних тварин.

У третій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст 8-ізопростану був на 106,2 % вище у порівнянні із показниками щурів групи 1, та на 72,4 % вище у порівнянні із показниками групи 2 (без імплантації). У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст 8-ізопростану був на 32,3 % менше, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст був нижче на 24,5 % відповідно.

Різниці вмісту 8-ізопростану в крові між застосуванням покриттів на основі танталу та оксиду танталу не спостерігалось.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) вміст 8-ізопростану в крові був на 108,9 % вище у порівнянні із показником у інтактних тварин (група 1), та на 74,7 % вище у порівнянні із показниками групи 2. У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу

(група 5) вміст 8-ізопростану в крові був на 30,6 % нижче, а у порівнянні із групою тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст був нижче на 23,0 % відповідно.

Таблиця 4.1.

Вміст 8-ізопростану (пг/мл) в крові експериментальних тварин після хірургічного втручання без імплантації та після імплантації хірургічних сіток без покриття, з покриттям на основі танталу та його похідних

Групи тварин	Медіана [25% перцентиль; 75% перцентиль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	11,25 [10,33; 13,05]
Група 2 Без імплантації (n=6)	13,45 ^a [12,60; 14,63] $p_{1,2}=0,0372$
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	23,20 ^{a,b,c,d} [22,20; 23,70] $p_{1,2}<0,0001$; $p_{3,4}<0,0001$
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	23,50 ^{a,b,c,d} [21,60; 24,80] $p_{1,2}<0,0001$; $p_3<0,0001$; $p_4=0,0001$
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	30,70 ^{a,b} [29,80; 32,50] $p_{1,2}<0,0001$
Група 6 Без покриття (n=7)	28,90 ^{a,b} [28,10; 29,80] $p_{1,2}<0,0001$

Примітка: a - значима ($p_1 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 1; b - значима ($p_2 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 2; c - значима ($p_3 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 5; d - значима ($p_4 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 6.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст 8-ізопростану в крові статистично був на 172,9 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин (група 1), та на 128,2 % вище у порівнянні із показниками щурів без імплантації хірургічної сітки (група 2).

У той же час, у експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст 8-ізопростану статистично був на 156,9 % вище у порівнянні із показником у інтактних тварин, та на 114,9 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено оперативне втручання без імплантації хірургічної сітки (рис. 4.1).

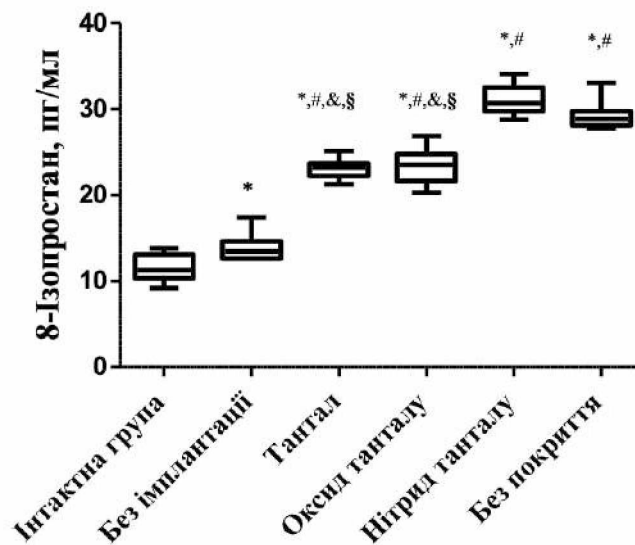


Рисунок 4.1. Вміст 8-ізопростану (пг/мл) у плазмі крові щурів через 28 діб після хірургічного втручання без імплантації та з імплантацією поліпропіленових хірургічних сіток без покриття, з покриттям на основі тантала (Ta), оксиду тантала (Ta_2O_5) та нітриду тантала (TaN).

Примітка: * - значима ($<0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 1; # - значима ($<0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 2; & - значима ($<0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 5; § - значима ($<0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 6.

Аналіз результатів вмісту біохімічного маркеру оксидативного стресу 8-ізопростану в крові експериментальних тварин свідчить про те, що використання поліпропіленових хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних сприяють підвищенню концентрації 8-ізопростану в плазмі крові, що свідчить про активацію ПОЛ та розвиток оксидативного стресу. За умов порівняння отриманих результатів вмісту біохімічного маркеру в крові у різних експериментальних груп можна

свідчити про те, що у щурів з імплантованою хірургічною сіткою з покриттям на основі нітриду танталу та хірургічною сіткою без покриття спостерігається активація вільнорадикальних процесів, більш інтенсивна активація ліпідної пероксидації у порівнянні з результатами, отриманими у щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі танталу та оксиду танталу.

За даними наукової літератури відомо, що АФК генеруються завдяки біологічній дії прозапальних інтерлейкінів, зокрема ІЛ-1 β та ІЛ-6, медіаторів запалення тощо. За попередніми дослідженнями було визначено генерацію АФК лейкоцитами крові експериментальних тварин. Саме активовані нейтрофільні лейкоцити є джерелом АФК. Продукція цих біологічно активних речовин може відбуватися шляхом «окисного вибуху».

Таким чином, визначення вмісту 8-ізопростану в плазмі крові щурів, яким було проведено оперативне втручання з імплантацією хірургічних сіток з різними покриттями може слугувати біохімічним маркером для оцінки вираженості процесів ліпідної пероксидації вільнорадикальних процесів розвитку оксидативного стресу. Визначення вмісту 8-ізопростану в крові пацієнтів хірургічного профілю в подальшому може бути застосовано як діагностичний біохімічний маркер для проведення антиоксидантної терапії після герніопластики та подальшого попередження виникнення ускладнень у післяопераційному періоді.

4.2 Оцінка стану антиоксидантної системи у експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток без покриття та з покриттям на основі танталу та його похідних

Внутрішньоклітинна концентрація активних форм кисню (АФК) залежить як від їхньої генерації, так і від функціонування антиоксидантної системи. Клітини організму містять антиоксиданти, які допомагають

запобігти або відновити пошкодження, що викликають АФК, та регулювати окисно-відновні сигнальні шляхи [150].

За даними наукової літератури відомо, що основними ферментами з антиоксидантною дією, що містяться в клітинах, які необхідні для усунення дисбалансу прооксидантно - антиоксидантної системи це супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатіонпероксидаза та інші.

Існує три ізоформи СОД: мідь- і цинковмісна СОД 1 (CuZnSOD), що локалізується в цитоплазмі й ядрі, марганцевмісна СОД 2 (MnSOD), з мітохондріальною локалізацією і позаклітинна SOD 3 (ECSOD), що експресується в тканинах організму [151].

СОД 1 становить близько 90% від загальної активності усіх форм супероксиддисмутази в еукаріотичних клітинах. Окрім первинного розподілу в цитозолі, невелика частина СОД 1 була знайдена в клітинних органелах, таких як лізосоми та пероксисоми. Також були отримані докази присутності СОД 1 (~2%) у міжмембранному просторі мітохондрій і було припущено, що дана локалізація є вкрай важливою для забезпечення подальшого захисту від АФК та запобігання втрати супероксидних радикалів із мітохондрій. СОД 1 діє як перша лінія захисту від АФК, каталізує дисмутацію супероксидних радикалів у перекис водню, який потім розкладається каталазою на воду та кисень, що додатково знижує пошкодження клітин і тканин від АФК [152].

Наступний антиоксидантний фермент каталаза локалізується у субклітинних органелах, відомих як пероксисоми. Активність каталази в крові у відповідь на імплантацію хірургічної сітки дає зрозуміти наскільки ефективно організм справляється з оксидативним стресом, зокрема у нейтралізації H_2O_2 , який може бути попередником більш реактивних і шкідливих речовин, таких як гідроксильні радикали [153]. Цілеспрямоване транспортування каталази в печінку шляхом галактозилювання знижує активність матриксної металопротеїнази. Відомо, що каталаза послаблює

як базальну, так і MnSOD-залежну експресію матриксних металопротеїназ, а також відкладення колагену.

Оцінка активності СОД 1 та каталази в крові експериментальних тварин у відповідь на імплантацію хірургічної сітки з покриттям на основі танталу та його похідних дає цінну інформацію про біологічну сумісність даних матеріалів і ефективність покриттів у модулюванні оксидативного стресу [194,199].

Аналіз отриманих результатів визначення активності СОД 1 та каталази в крові експериментальних тварин представлено в табл. 4.2. У інтактних тварин (група 1) середнє значення активності СОД 1 складало 173,1 [169,5; 177,8] U/ml, та середнє значення каталази складало 76,15 [75,0; 80,08] U/ml. Ці значення будуть використані в якості референтних значень для порівняння.

У результаті проведених експериментальних досліджень на 28 добу було визначено, що активність СОД 1 і каталази в крові експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічної сітки (група 2) підвищувалася активність на 83,7% супероксиддисмутази 1 та на 58,4 % каталази.

У третій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу активність СОД 1 була вище на 86,2 % у порівнянні із показниками у інтактних тварин (група 1). У той же час, у порівнянні із групою щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) активність СОД 1 була на 21,7 % нижче, а у порівнянні зі щурами, яким було імплантовано сітки без покриття (група 6) активність ферменту була нижче на 21,5 % відповідно.

Таблиця 4.2.

Активність СОД 1 та каталази в крові експериментальних тварин після хірургічного втручання без імплантації та після імплантації хірургічних сіток без покриття, з покриттям на основі танталу та його похідних

Групи тварин	СОД 1 (U/ml) Медіана [25% перцентиль; 75% перцентиль]	Каталаза (U/ml) Медіана [25% перцентиль; 75% перцентиль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	173,1 [169,5; 177,8]	76,15 [75,0; 80,08]
Група 2 Без імплантації (n=6)	318,0 ^a [285,1; 353,1] $p_1 < 0,0001$	120,6 ^a [108,7; 123,8] $p_1 < 0,0001$
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	322,4 ^{a,c,d} [312,9; 351,2] $p_{1,4} < 0,0001$; $p_3 = 0,0003$	129,6 ^{a,b,c,d} [123,7; 131,4] $p_1 < 0,0001$; $p_2 = 0,0096$; $p_{3,4} < 0,0001$
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	341,1 ^{a,c,d} [324,9; 356,5] $p_{1,4} < 0,0001$; $p_3 = 0,0002$	127,6 ^{a,b,c,d} [123,4; 134,2] $p_1 < 0,0001$; $p_2 = 0,0124$; $p_{3,4} < 0,0001$
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	392,3 ^{a,b} [371,2; 392,6] $p_1 < 0,0001$; $p_2 = 0,0037$	142,2 ^{a,b} [137,5; 144,9] $p_{1,2} < 0,0001$;
Група 6 Без покриття (n=7)	391,8 ^{a,b} [381,5; 405,4] $p_1 < 0,0001$; $p_2 = 0,0016$	146,5 ^{a,b} [143,2; 150,0] $p_{1,2} < 0,0001$;

Примітка: *a* - значима ($p_1 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 1; *b* - значима ($p_2 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 2; *c* - значима ($p_3 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 5; *d* - значима ($p_4 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 6.

Активність каталази у групі експериментальних тварин яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу (група 3) була вище на 70,2 % у порівнянні із результатами інтактної групи (група 1) та на 11,8 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (групи 2). У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) активність каталази була на 9,8 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) нижче на 13%.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) активність СОД 1 була вище на 97,05 % у порівнянні із показниками у інтактних тварин. У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) активність СОД 1 була на 15 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) активність була нижче на 14,9 %.

Активність каталази у групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу була вище на 67,6 % у порівнянні із результатами у інтактних тварин (група 1) та практично не відрізнялася у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (групи 2). У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) активність каталази була на 11,4 % нижче, а у порівнянні із

групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) активність була нижче на 14,8 %.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) активність СОД 1 була на 126,6% вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 23,4 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

Активність каталази у експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу була на 86,7 % вище у порівнянні із показниками інтактних тварин, та на 17,9 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації. Спостерігалось значне підвищення активності каталази.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6) активність СОД 1 була на 126,3 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 23,2 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

Активність каталази у експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття була на 92,4% вище у порівнянні із показниками в крові інтактних тварин, та на 21,5% вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації.

Таким чином, в організмі експериментальних тварин біохімічна дія вільних радикалів контролюється антиоксидантною системою, що складається з ферментативної ланки, яку поредставляють СОД, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза тощо та неферментативної,

що представлена вітамінами E, C, A, β -каротином, глутатионом, поліфенолами та іншими речовинами.

Ми визначали в крові щурів активність СОД, що є ферментом першої ланки антиоксидантного захисту: утворення перекису водню з супероксидних аніонів, що у подальшому за умов дії каталази перетворюється на кисень та воду.

При застосуванні хірургічних сіток на основі танталу та його похідних (оксиду та нітриду танталу) спостерігається підвищення активності як СОД 1, так і каталази. Більш виразні зміни визначених показників спостерігалися у щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу та хірургічні сітки без покриття.

Ми вважаємо, що за умов застосування хірургічних сіток із різними типами покриттів відбувається компенсація гіперпродукції АФК та інтенсифікації ВРП лейкоцитами в організмі щурів. Слід відмітити, що у щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу та хірургічні сітки без покриття активність АОЗ була більш виразною, що супроводжувалось значним підвищенням СОД 1 та каталази.

Таким чином, за умов активації ПОЛ, генерації АФК на тлі підвищення активності ферментативної ланки АОЗ може виникати порушення редокс-гомеостазу (про що свідчить підвищення відсотку апоптичних та некротичних клітин) з розвитком оксидативного стресу. Особливо це стосується тварин, яким було імплантовані хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу та без покриття, що супроводжується більш виразним відсотком пізньоапоптичних та некротичних лейкоцитів.

4.3 Визначення вмісту білків гострої фази в крові експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних

Однією з реакцій організму на системне або місцеве порушення у гомеостазі, що може бути викликано пошкодженням тканин при оперативному втручанні та імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних, є зміна вмісту білків «гострої фази». Реакція гострої фази є фундаментальним показником імунної відповіді організму на розвиток інфекційного або запального процесу, що характеризується змінами концентрації білків «гострої фази» у плазмі крові [153].

Ключовими білками «гострої фази» є С-реактивний білок (СРБ), церулоплазмін, гаптоглобін та інші, що представляють значний клінічний інтерес через їхню інформативність після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток з різними видами покриттів та служать маркерами біосумісності імплантатів та перебігу процесу загоєння хірургічної рани [155].

Гострофазовий С-реактивний білок є чутливим маркером розвитку запального процесу. Збільшення вмісту цього важливого біохімічного маркера в крові пацієнтів демонструє біологічну реакцію організму на імплантацію інородного тіла - хірургічної сітки. Печінка синтезує СРБ у відповідь на вивільнення прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкін-6 (ІЛ-6) та фактор некрозу пухлини- α (ФНП- α), що вивільняються макрофагами та нейтрофілами. Експресія СРБ відбувається у міоцитах, ендотеліоцитах, лімфоцитах, макрофагах тощо [155,156].

У контексті імплантації хірургічної сітки з покриттям на основі танталу та його похідних при герніопластиці зміна вмісту СРБ може вказувати на розвиток гострого й хронічного запального та інфекційного

процесів, потенційних патологічних процесів, пов'язаних з біосумісністю імплантату [157].

Відомо, що СРБ є пентамерним білком, що складається з п'яти ідентичних субодиниць, нековалентно зв'язаних між собою, що утворюють дископодібну структуру. Ця пентамерна форма називається нативним СРБ (nCRP). Кожна субодиниця складається з 206 амінокислот і має молекулярну масу приблизно 115 кДа. СРБ належить до сімейства білків пентраксину, що характеризується своєю пентамерною структурою та кальцій-залежним зв'язуванням ліганду [158].

Основною функцією СРБ є зв'язування фосфатидилхоліну, який експресується на поверхні пізньоапоптичних або некротичних клітин. Дане зв'язування здійснюється за допомогою іонів кальцію та полегшує розпізнавання чужорідних патогенів і пошкоджених клітин імунною системою. Цей білок зв'язується зі своїми мішенями, активує систему комплементу, зокрема класичний шлях, посилює фагоцитоз та сприяє виведенню патогенів і змінених за структурою апоптотичних клітин. Дана активація відіграє вирішальну роль у модулюванні запальної відповіді та захисті організму від розвитку інфекційного процесу. Концентрація СРБ у крові різко змінюється у відповідь на розвиток запального процесу, часто підвищується протягом перших годин після початку запалення або пошкодження тканин організму. У нашому випадку після хірургічного втручання швидке збільшення вмісту СРБ у поєднанні з його відносно коротким періодом напіврозпаду (приблизно 20 годин) робить СРБ одним із кращих біомаркерів гострого запального процесу [159, 160].

Ще одним з вагомих показників запального процесу є гаптоглобін, що відіграє вирішальну роль у зв'язуванні вільного гемоглобіну, що вивільняється еритроцитами при гемолізі, запобігає втраті заліза та пошкодженню нирок. Вміст гаптоглобіну підвищується у відповідь на пошкодження тканин або розвиток запального процесу, при цьому він обмежує можливість окисного пошкодження клітин вільним гемоглобіном.

При виході гемоглобіну в плазму крові внаслідок розпаду еритроцитів гаптоглобін зв'язується з ним з високою спорідненістю. Даний гаптоглобін-гемоглобіновий комплекс швидко виводиться з кровообігу системою моноцитів і макрофагів, головним чином у селезінку та печінку [161, 162].

Наявність комплексу гаптоглобін-гемоглобін виконує кілька важливих функцій:

- запобігання окисному пошкодженню клітин, що може викликати вільний гемоглобін: може каталізувати перетворення перекису водню у вільні радикали, що призводить до розвитку оксидативного стресу та пошкодження структур клітин. Гаптоглобін секвеструє вільний гемоглобін та зменшує цей ризик;

- збереження заліза в організмі: при зв'язуванні вільного гемоглобіну, гаптоглобін запобігає втраті заліза через нирки та сприяє гомеостазу заліза;

- протизапальна дія: виведення комплексу гаптоглобін-гемоглобін сприяє протизапальній дії, оскільки вільний гемоглобін може діяти як прозапальний агент.

Гаптоглобін відіграє вирішальну роль у метаболізмі заліза, антиоксидантному захисті та модулюванні імунної відповіді, що робить його одним із ключових біохімічних маркерів при діагностиці різних патологічних станів []. Гаптоглобін синтезується, в більшості випадків, у печінці й вивільняється в кров. Структура білка характеризується наявністю важких альфа (α) ланцюгів та легких бета (β) ланцюгів, які з'єднані дисульфідними зв'язками. Ген гаптоглобіну людини є поліморфним, що призводить до синтезу трьох основних фенотипів: Нр 1-1, Нр 2-1 і Нр 2-2, кожен з яких відрізняється своєю молекулярною структурою та спорідненістю до зв'язування гемоглобіну [163].

У контексті використання поліпропіленових хірургічних сіток без покриття та з покриттям на основі танталу та його похідних моніторинг рівню гаптоглобіну в крові пацієнтів може сприяти розумінню загальної

реакції організму на оперативне втручання та імплантацію. Значне зниження вмісту гаптоглобіну в крові може свідчити про гемоліз еритроцитів, тоді як підвищення - про реакцію гострої фази на хірургічне втручання. Розуміння змін гострофазових білків та сіроглікоїдів має вирішальне значення для післяопераційного ведення пацієнтів та попередження можливих ускладнень.

Церулоплазмін - це основний білок крові, що переносить та містить мідь, бере участь у метаболізмі заліза та проявляє антиоксидантні властивості шляхом окислення двовалентного (Fe^{2+}) до тривалентного (Fe^{3+}) заліза. Ця активність не тільки сприяє транспортуванню заліза, але й зменшує доступність заліза для утворення шкідливих вільних радикалів через реакцію Фентона. Підвищений рівень церулоплазміну в крові може спостерігатися як при гострих, так і при хронічних запальних процесах й сприяти захисним механізмам при оксидативному стресі [164].

Церулоплазмін синтезується, в основному, в печінці і секретується в плазму, де зв'язує і транспортує приблизно 95% загальної кількості міді в сироватці крові людини. Крім своєї ролі в транспортуванні міді, церулоплазмін має ферментативну активність, яка сприяє регуляції гомеостазу заліза, відповіді на оксидативний стрес і потенційно модулює запальний процес [165,166].

Сіроглікоїди - це глікопротеїни, що містять у собі вуглеводний компонент і належать до секреторних білків ліпокаліну за їхньою структурою. Вони відіграють роль протизапальних та імунорегуляторних медіаторів, беруть участь в агрегації тромбоцитів і проникності ендотелію, а також мають антинейтрофільну та антикомплементну активність. Сіроглікоїди є глікопротеїнами гострої фази, які синтезуються печінкою та периферичними тканинами у відповідь на системну реакцію запалення або різні стресові стимули, такі як фізична травма, оперативне втручання, бактеріальна чи вірусна інфекція [167].

Під час запалення або тканинного пошкодження концентрація даних складних білків збільшується в 3-4 рази, а їх максимальний рівень, як правило, досягається через 3-5 днів після початку захворювання. Вміст сіроглікоїдів в крові підвищується повільніше і залишається підвищеним довше, ніж у випадку з С-реактивним білком (60-120 годин проти 19 годин напіврозпаду відповідно). Тому їх можна використовувати разом для визначення стадії та тяжкості запалення. Крім того, кількісне значення сіроглікоїдів краще відображає тривале хронічне запалення [168].

Кількісне визначення білків «гострої фази» забезпечує основу для оцінки розвитку оксидативного стресу та запальних реакцій у відповідь на імплантацію хірургічної сітки з різними видами покриттів за умов оперативного втручання. Значне підвищення рівня білків «гострої фази» може свідчити про навісті ускладнень у післяопераційному періоді: хронічний запальний процес, розвиток інфекційного процесу або знижену інтеграцію хірургічного імпланту з навколишніми тканинами, що потребує подальшого дослідження або повторного хірургічного втручання [169,170].

На теперешній час досягнення в дизайні та біомеханіці хірургічних сіток спрямовані на мінімізацію виникнення запальних реакцій у післяопераційному періоді і підвищення біосумісності хірургічних сіток [171]. Стратегії включають розробку сіток із протизапальними покриттями або сіток, виготовлених з матеріалів, які за своєю природою модулюють імунну відповідь. Розуміння взаємодії між імплантованими чужорідними матеріалами та імунною системою пацієнта, особливо з точки зміни концентрації білків «гострої фази», має вирішальне значення для покращення результатів хірургічних втручань та попередження ускладнень. Крім того, визначення вмісту білків «гострої фази» у післяопераційному періоді є біохімічними критеріями для оцінки успіху імплантації хірургічної сітки з різними видами покриттів та раннього виявлення потенційних ускладнень.

Аналіз отриманих результатів визначення вмісту С-реактивного білку в крові експериментальних тварин представлено в табл. 4.3. У інтактних тварин (група 1) середнє значення вмісту СРБ складало 2,25 [1,55; 2,9] мг/л. Ці значення будуть використані в якості значень для порівняння.

У результаті проведених експериментальних досліджень на 28 добу було визначено, що вміст С-реактивного білку в крові експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічної сітки (група 2) підвищувався на 95,6 % у порівнянні з інтактними тваринами [198].

У третій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст СРБ в крові був на 113,3 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин та не відрізнявся від показників у щурів, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації. Вміст СРБ в крові щурів групи 3 також не відрізнявся від показників групи, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі оксиду танталу (група 4).

У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст СРБ був на 54,1 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст СРБ був нижче на 68,75 %.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) вміст СРБ в крові був на 95,6 % вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин.

У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст СРБ був на 68,2 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст СРБ був нижче на 84,1 %. У порівнянні із групою

експериментальних тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) вміст СРБ достовірно не відрізнявся.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст СРБ був на 228,8 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 68,2 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст СРБ був у 3,6 рази вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 84,1 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічних сіток (група 2).

Таблиця 4.3.

Вміст С-реактивного білку (мг/л) в крові експериментальних та інтактних тварин

Групи тварин	Медіана [25% перцентіль; 75% перцентіль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	2,25 [1,55; 2,9]
Група 2 Без імплантації (n=6)	4,4 ^a [4,0; 5,0] $p_1=0,0005$
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	4,8 ^{a,c,d} [3,9; 5,5] $p_1=0,0003$; $p_3=0,0415$; $p_4=0,0032$
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	4,4 ^{a,c,d} [3,8; 5,4] $p_1=0,0002$; $p_3=0,0128$; $p_4=0,0010$
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	7,4 ^{a,b} [4,9; 7,9] $p_1=0,0001$; $p_2=0,0199$
Група 6 Без покриття (n=7)	8,1 ^{a,b} [6,2; 9,3] $p_1<0,0001$; $p_2=0,0020$

Примітка: *a* - значима ($p_1 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 1; *b* - з показниками групи 2; *c* - з показниками групи 5; *d* - порівняно з показниками групи 6.

Аналіз отриманих результатів визначення вмісту гаптоглобіну в крові експериментальних тварин представлено в табл. 4.4. У інтактних тварин (група 1) середнє значення вмісту гаптоглобіну склало 888.5 [794.4; 1174.1] мг/л. Ці значення будуть використані в якості референтних значень.

У результаті проведених експериментальних досліджень на 28 добу було визначено, що вміст гаптоглобіну в крові експериментальних тварин, яким проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічної сітки (група 2) підвищувався на 88,6 % у порівнянні з інтактними тваринами.

Таблиця 4.4.

Вміст гаптоглобіну (мг/л) в крові експериментальних тварин після хірургічного втручання без імплантації та після імплантації хірургічних сіток без покриття, з покриттям на основі танталу та його похідних

Групи тварин	Медіана [25% перцентиль; 75% перцентиль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	888,5 [794,4; 1174,1]
Група 2 Без імплантації (n=6)	1676,0 ^a [1406,0; 1867,0] p ₁ =0,0011
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	1633,0 ^{a,c} [1424,0; 1843,0] p ₁ =0,0001; p ₃ =0,0048
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	1423,0 ^{a,c,d} [1215,0; 1743,0] p ₁ =0,0032; p ₃ =0,0018; p ₄ =0,0174
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	2044,0 ^{a,b} [1833,0; 2343,0] p ₁ <0,0001; p ₂ =0,0144
Група 6 Без покриття (n=7)	1870,0 ^a [1615,0; 2067,0] p ₁ <0,0001

Примітка: *a* - значима ($p_1 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 1; *b* - значима ($p_2 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 2; *c* - значима ($p_3 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 5; *d* - значима ($p_4 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 6.

У третій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст гаптоглобіну був на 83,8 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та не відрізнявся від результатів, отриманих у щурів, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі оксиду танталу. У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу вміст гаптоглобіну був на 25,2 % нижче. У порівнянні із групами щурів, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації та з імплантацією хірургічних сіток без покриття вміст гаптоглобіну достовірно не відрізнявся.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) вміст гаптоглобіну був на 60,15 % вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин. У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст гаптоглобіну був на 43,6 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст гаптоглобіну був нижче на 31,4 %. У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) вміст гаптоглобіну в крові достовірно не відрізнявся.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст гаптоглобіну був на 130,0 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 21,95 % вище у порівнянні із показниками у експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст гаптоглобіну

був на 110,4 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та не відрізнявся від показників у експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічних сіток.

Визначення вмісту церулоплазміну в крові експериментальних тварин представлено в табл. 4.5.

У інтактних тварин (група 1) середнє значення вмісту церулоплазміну склало 318,5 [297,9; 347,6] мг/л. Ці значення будуть використані в якості значень для порівняння.

Таблиця 4.5.

Вміст церулоплазміну (мг/л) в крові експериментальних тварин після хірургічного втручання без імплантації та після імплантації хірургічних сіток без покриття, з покриттям на основі танталу та його похідних

Групи тварин	Медіана [25% перцентиль; 75% перцентиль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	318,5 [297,9; 347,6]
Група 2 Без імплантації (n=6)	366,4 ^a [331,5; 407,2] p ₁ =0,0348
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	422,4 ^{a,c,d} [324,0; 437,8] p ₁ =0,0313; p ₃ =0,0139; p ₄ =0,0089
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	412,0 ^{a,b,c,d} [398,6; 421,3] p ₁ <0,0001; p ₂ =0,0213; p ₃ =0,0112; p ₄ =0,0056
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	479,8 ^{a,b} [459,2; 513,4] p ₁ <0,0001; p ₂ =0,0015
Група 6 Без покриття (n=7)	486,2 ^{a,b} [426,0; 536,1] p ₁ <0,0001; p ₂ =0,0008

Примітка: *a* - значима (p₁ < 0,05) відмінність порівняно з показниками групи 1; *b* - значима (p₂ < 0,05) відмінність порівняно з показниками групи 2; *c* - значима (p₃ < 0,05) відмінність порівняно з показниками групи 5; *d* - значима (p₄ < 0,05) відмінність порівняно з показниками групи 6.

У результаті проведених досліджень на 28 добу було визначено, що

вміст церулоплазміну в крові експериментальних тварин, яким проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічної сітки (група 2) незначно підвищувався, а саме на 15,0 % у порівнянні з інтактними тваринами [204].

У третій групі експериментальних щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст церулоплазміну був на 32,6 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин. У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст церулоплазміну був на 13,6 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст церулоплазміну був нижче на 15,1 %. У порівнянні зі щурами, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) вміст церулоплазміну достовірно не відрізнявся, але мав тенденцію до збільшення.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) вміст церулоплазміну був на 29,35 % вище у порівнянні із результатами контрольної групи (інтактних тварин), а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) був на незначно вище, а саме на 12,4 %. У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст церулоплазміну був на 16,45 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст церулоплазміну був нижче на 18,0 %.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст церулоплазміну був на 50,6 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин та на 30,9 % вище у порівнянні із

показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст церулоплазміну був найвищий показник, а саме на 52,65 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин та на 32,7 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

Аналіз отриманих результатів визначення вмісту сіроглікоїдів у крові експериментальних тварин представлено в табл. 4.6.

Таблиця 4.6.

Вміст сіроглікоїдів (од. за S-H) у крові експериментальних тварин після хірургічного втручання без імплантації та після імплантації хірургічних сіток без покриття, з покриттям на основі танталу та його похідних

Групи тварин	Медіана [25% перцентиль; 75% перцентиль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	15,95 [15,55; 16,25]
Група 2 Без імплантації (n=6)	17,55 ^a [16,58; 18,243] p ₁ =0,0075
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	5,4 ^{a,b,c,d} [5,2; 5,7] p _{1,2} <0,0001; p _{3,4} <0,0001
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	11,9 ^{a,b,c,d} [11,5; 12,5] p _{1,2} <0,0001; p ₃ =0,0008; p ₄ <0,0001
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	14,6 ^{a,b,d} [12,8; 15,4] p ₁ =0,0127; p ₂ =0,0004; p ₄ <0,0001
Група 6 Без покриття (n=7)	19,8 ^{a,b} [19,3; 20,5] p ₁ <0,0001; p ₂ =0,0004

Примітка: a - значима (p₁ < 0,05) відмінність порівняно з показниками групи 1; b - значима (p₂ < 0,05) відмінність порівняно з показниками групи 2; c - значима (p₃ < 0,05) відмінність порівняно з показниками групи 5; d - значима (p₄ < 0,05) відмінність порівняно з показниками групи 6.

У інтактних тварин середнє значення вмісту сіроглікоїдів склало 15,95 [15,55; 16,25] од. за S-H (за Shank та Hoagland). Ці значення будуть використані в якості референтних значень.

У результаті проведених експериментальних досліджень на 28 добу було визначено, що вміст сіроглікоїдів в крові експериментальних тварин, яким проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічної сітки (група 2) був незначно вище, а саме на 10,0 % у порівнянні з інтактними тваринами [205].

У третій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст сіроглікоїдів був у 2,95 рази нижче у порівнянні із показниками у інтактних тварин (група 1), а у порівнянні із групою тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) вміст сіроглікоїдів в крові був у 3,25 рази нижче. У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст сіроглікоїдів був на 170,3 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст сіроглікоїдів був нижче на 266,6 %.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) вміст сіроглікоїдів був на 34,0 % нижче у порівнянні із результатами у інтактних тварин (група 1), а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) був на 47,5 % нижче. У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст сіроглікоїдів в крові був на 22,7 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст сіроглікоїдів був нижче на 66,4 %.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст сіроглікоїдів був всього на 9,2 % нижче у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 20,2 % нижче у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2). У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст сіроглікоїдів був нижче на 35,6%.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст сіроглікоїдів був на 24,1 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 12,8 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

Отримані нами результати вмісту в крові білків «гострої фази» вказують на те, що застосування поліпропіленових хірургічних сіток з покриттям на основі танталу (група 3) та оксиду танталу (група 4) значно зменшують вміст цих глікопротеїнів, що є універсальними маркерами розвитку запального процесу у місці імплантації, не зачіпає сполучну тканину у місці імплантації хірургічних сіток, порівняно з хірургічними сітками без покриття (група 6) та з покриттям на основі нітриду танталу (група 5).

Це підтверджується більш низькими рівнями біохімічних маркерів запалення, що свідчить про покращену біосумісність і протизапальну дію покриттів з танталу та оксиду танталу, що наносилися на хірургічні сітки.

Застосування покриттів на основі нітриду танталу та хірургічних сіток без покриття свідчить про те, що спостерігається значне підвищення вмісту білків «гострої фази» та сіроглікоїдів, що означає залучення у запальний процес сполучної тканини.

Таким чином, ми аналізували вміст біохімічного маркера запалення в плазмі крові експериментальних тварин - С-реактивного білку для

визначення та подальшого моніторингу перебігу післяопераційного періоду за умов можливого виникнення запального процесу при застосуванні різних видів покриттів. Практично в усіх експериментальних групах спостерігалось підвищення одного зі значимих показників запального процесу - СРБ, найбільш виразні зміни вмісту визначалися у щурів 5 та 6 груп (хірургічні сітки із покриттям на основі нітриду танталу та без покриття). В останніх наукових роботах з'являється інформація щодо ролі СРБ у запальних процесах, активації системи комплементу, процесах фагоцитозу, вивільнення NO, продукції прозапальних цитокінів - ІЛ-6 та ФНП- α [173]. На нашу думку, виникає «порочне коло», з одного боку прозапальні цитокіни сприяють синтезу СРБ, а з іншого, СРБ - продукції ІЛ-6 та ФНП- α .

При розумінні причин розвитку запального процесу, врахуванні критичної ролі характеристик поверхні та складу імплантованого матеріалу, отримані нами результати дослідження підкреслюють потенціал танталових покриттів, а саме танталу та оксиду танталу, в подальшому для значного підвищення біосумісності поліпропіленових хірургічних сіток. Запропоновані нами інновації можуть призвести до кардинальних змін у лікуванні гриж, попередженні виникнення запального процесу після імплантації хірургічних сіток та узгоджує головну мету - покращення результатів хірургічних втручань (зниження відсотку післяопераційних ускладнень - розвитку спайкового та гнійно-септичного процесів) і часу відновлення пацієнтів.

4.4 Оцінка вмісту прозапальних цитокінів в крові експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних

У попередньому дослідженні ми спостерігали значні зміни вмісту основних гострофазових показників, зокрема СРБ, церулоплазмину,

гаптоглобіну та сіроглікоїдів, тому було б доцільним визначити вміст в крові прозапальних цитокінів, зокрема інтерлейкіну-1 бета (ІЛ-1 β) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6).

Інтерлейкін-1 бета та інтерлейкін-6 виступають ключовими цитокінами в складній мережі імунних сигналів та відіграють вирішальну роль в опосередкуванні запального процесу, при цьому сприяють взаємодії між вродженим і адаптивним імунітетом [174].

ІЛ-1 β головним чином продукується макрофагами, моноцитами та дендритними клітинами [175]. Даний цитокін впливає на широкий спектр біологічних процесів, у тому числі на розвиток запального процесу, клітинну проліферацію, диференціацію та апоптоз. ІЛ-1 β синтезується у вигляді молекули-попередника (про-ІЛ-1 β), яка потребує розщеплення за умов дії каспази-1 для перетворення в активну форму. Цей процес активації регулюється і відбувається в мультибілковому комплексі, відомому як інфламасома. Після активації ІЛ-1 β стимулює прозапальний процес, який включає синтез білків «гострої фази» у печінці та посилення адгезії ендотеліальних клітин, при цьому також сприяє міграції лейкоцитів у тканини з наявним запальним процесом [176].

Хоча ІЛ-1 β має вирішальне значення для ефективної імунної відповіді організму, його надмірна продукція або тривала активація сприяє розвитку багатьох хронічних запальних та аутоімунних захворювань (ревматоїдний артрит, подагра, цукровий діабет II типу та інші). Враховуючи його ключову роль у розвитку запального процесу, визначення вмісту ІЛ-1 β в крові має вирішальне значення для експериментальних досліджень та діагностики патологічних станів [177].

ІЛ-6 є багатофункціональним прозапальним цитокіном, що синтезується різними типами клітин: Т- та В-лімфоцитами, моноцитами, фібробластами та ендотеліальними клітинами. Його функціональність надзвичайно різноманітна, від сприяння синтезу білків гострої фази, таких як С-реактивний білок (СРБ), до стимуляції диференціації В-клітин і

синтеза антитіл [178]. Цей цитокін відіграє ключову роль у переході запального процесу від гострої до хронічної форми і бере участь у патогенезі хронічних запальних станів, аутоімунних та онкологічних захворювань. Його здатність діяти як прозапальний цитокін і як регулятор імунної відповіді підкреслює його важливість у підтримці гомеостазу [179].

Таким чином, такі прозапальні цитокіни, як ІЛ-1 β та ІЛ-6 можуть відігравати вирішальну роль у розвитку гострого або хронічного запального процесу при імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із біосумісним покриттям на основі танталу та його похідних. При вивченні даних із наукової літератури ми звернули увагу на незначну кількість інформації щодо визначення вмісту зазначених прозапальних цитокінів в крові експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток із біосумісним покриттям [180,181], що доводить важливість нашого дослідження.

Аналіз результатів визначення вмісту ІЛ-1 β в крові експериментальних тварин представлено в табл. 4.7. У інтактних тварин (група 1) середнє значення вмісту ІЛ-1 β склало 7,55 [7,1; 8,3] пг/мл. Ці значення будуть використані в якості референтних значень для порівняння.

У результаті проведених експериментальних досліджень на 28 добу було визначено, що вміст ІЛ-1 β в крові експериментальних тварин, яким проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічної сітки (група 2) був вище на 19,9 % у порівнянні з інтактними тваринами [196].

У третій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу вміст ІЛ-1 β в крові був на 13,9 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин (група 1). У той же час, у порівнянні із групою щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст ІЛ-1 β був на 26,7 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без

покриття (група 6) вміст ІЛ-1 β був нижче на 50,0 %. У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) вміст ІЛ-1 β достовірно не відрізнявся.

Таблиця 4.7.

Вміст ІЛ-1 β (пг/мл) у крові експериментальних тварин після хірургічного втручання без імплантації та після імплантації хірургічних сіток без покриття, з покриттям на основі танталу та його похідних

Групи тварин	Медіана [25% перцентиль; 75% перцентиль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	7,55 [7,1; 8,3]
Група 2 Без імплантації (n=6)	9,05 ^a [8,35; 9,4] $p_1=0,0070$
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	8,6 ^{a,c,d} [7,8; 8,9] $p_1=0,0475$; $p_3=0,0005$; $p_4<0,0001$
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	8,9 ^{a,c,d} [8,4; 9,2] $p_1=0,0093$; $p_3=0,0019$; $p_4<0,0001$
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	10,9 ^{a,b,d} [9,8; 11,6] $p_1<0,0001$; $p_2=0,0041$; $p_4=0,0118$
Група 6 Без покриття (n=7)	12,9 ^{a,b} [11,2; 13,3] $p_{1,2}<0,0001$

Примітка: *a* - значима ($p_1 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 1; *b* - значима ($p_2 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 2; *c* - значима ($p_3 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 5; *d* - значима ($p_4 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 6.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу (група 4) вміст ІЛ-1 β був на 17,9 % вище у порівнянні із результатами щурів контрольної групи (група 1). У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з

покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст ІЛ-1β був на 22,5 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст ІЛ-1β був нижче на 44,9 %. У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) вміст ІЛ-1β достовірно не відрізнявся [206].

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст ІЛ-1β був на 44,4 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 20,4 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2). У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст ІЛ-1β був нижче на 18,3 %.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст ІЛ-1β був на 70,9% вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 42,5 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

Аналіз результатів визначення вмісту ІЛ-6 в крові експериментальних тварин представлено в табл. 4.8. У інтактних тварин (група 1) середнє значення вмісту ІЛ-6 склало 6,05 [4,9; 6,3] пг/мл. Ці значення будуть використані в якості значень для порівняння.

У результаті проведених експериментальних досліджень на 28 добу було визначено, що вміст ІЛ-6 в крові експериментальних тварин, яким проведено хірургічне втручання без імплантації хірургічної сітки (група 2), був вище на 28,9% у порівнянні з інтактними тваринами.

У третій групі експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу, вміст ІЛ-6 був на 20,6% вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин (група

1). У той же час, у порівнянні із групою щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст ІЛ-6 був на 39,7% нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст ІЛ-6 був нижче на 49,3%. У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) вміст ІЛ-6 достовірно не відрізнявся.

Таблиця 4.8.

Вміст ІЛ-6 (пг/мл) в крові експериментальних тварин після хірургічного втручання без імплантації та після імплантації хірургічних сіток без покриття, з покриттям на основі танталу та його похідних

Групи тварин	Медіана [25% перцентиль; 75% перцентиль]
Група 1 Інтактна група (n=6)	6,05 [4,9; 6,3]
Група 2 Без імплантації (n=6)	7,8 ^a [6,9; 8,4] $p_1=0,0026$
Група 3 Покриття на основі танталу (n=7)	7,3 ^{a,c,d} [6,8; 7,9] $p_1=0,0022$; $p_3<0,0001$; $p_4<0,0001$
Група 4 Покриття на основі оксиду танталу (n=7)	8,2 ^{a,c,d} [7,4; 8,6] $p_1<0,0001$; $p_3=0,0002$; $p_4<0,0001$
Група 5 Покриття на основі нітриду танталу (n=7)	10,2 ^{a,b,d} [9,2; 10,3] $p_1<0,0001$; $p_2=0,0003$; $p_4=0,0118$
Група 6 Без покриття (n=7)	10,9 ^{a,b} [10,3; 13,1] $p_1<0,0001$; $p_2=0,0223$

Примітка: *a* - значима ($p_1 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 1; *b* - значима ($p_2 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 2; *c* - значима ($p_3 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 5; *d* - значима ($p_4 < 0,05$) відмінність порівняно з показниками групи 6.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі оксиду танталу

(група 4) вміст ІЛ-6 був на 35,5 % вище у порівнянні із результатами у інтактних тварин (група 1). У той же час, у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст ІЛ-6 був на 24,4 % нижче, а у порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст ІЛ-6 був нижче на 32,9 %. У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким проводилося хірургічне втручання без імплантації (група 2) вміст ІЛ-6 в крові тварин достовірно не відрізнявся.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) вміст ІЛ-6 був на 68,6 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 30,7 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2). У порівнянні із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст ІЛ-6 був незначно нижче, а саме на 6,9 %.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття (група 6) вміст ІЛ-6 був найбільш підвищений, а саме на 80,2 % вище у порівнянні із показниками у інтактних тварин, та на 39,8 % вище у порівнянні із показниками експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2).

Варто відмітити, що отримані зміни вмісту в крові експериментальних тварин прозапальних цитокінів узгоджуються з нашими попередніми результатами дослідження. Найбільша зміна вмісту прозапальних цитокінів в крові експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) та без покриття (група 6) вказує на посилення імунної відповіді після проведеного оперативного втручання, що може призводити до порушення

гомеостазу, пошкодження тканин пацієнта в області імплантації хірургічних сіток із різними видами покриттів та активації синтезу білків «гострої фази», зокрема СРБ, що було описано нами у минулому розділі. При цьому у групах експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям танталу (група 3) та оксиду танталу (група 4) відзначалася помірний синтез прозапальних цитокінів у порівнянні з групою інтактних тварин (група 1) та тварин, яким було проведено оперативне втручання без імплантації хірургічної сітки (група 2).

За матеріалами розділу опубліковано:

[194]. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2023). Визначення стану антиоксидантної системи у щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. *Експериментальна і клінічна медицина*, 4 (92), 17-23. <https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.4.nak>.

[195]. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2023). 8-Ізопростан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*, 4 (98), 28–34. <https://doi.org/10.25040/ecpb2023.04.028>

[196]. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2024). Роль прозапальних цитокінів в організмі щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. *Вісник проблем біології і медицини*, 1 (172), 203-208. DOI: 10.29254/2077-4214-2024-1-172-203-208.

[198]. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2024). Визначення білків гострої фази в крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*, 1 (99), 40-48. <https://doi.org/10.25040/ecpb2024.01.040>.

[199]. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Дудін С.В., Кислов О.В. Визначення патологічних змін в організмі щурів після імплантації матеріалів з покриттям на основі тантала. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (01 жовтня 2021 р., Харків, Україна), С. 197-199.

[202]. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В. Визначення концентрації 8-ізопростану в крові щурів після імплантації хірургічної сітки з покриттям на основі тантала та його похідних. VI науково - практична конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, Україна, 16 листопада 2023 р.), С. 339-341.

[204]. Кислов О.В. Церулоплазмін в крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі тантала та його похідних як маркер стану антиоксидантної системи. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), С. 60-61.

[205]. Кислов О.В., Гейдаров Г. Вміст сіроглікоїдів у крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі тантала та його похідних. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), С. 166-167.

[206]. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В. Вміст ІЛ-1 β та ІЛ-6 в крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі тантала та його похідних. I Міжнародна науково-практична онлайн конференція «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної біохімії та молекулярної біології» (м. Харків, Україна, 7 березня 2024 р.), С. 453-456.

РОЗДІЛ 5

МОРФОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ХІРУРГІЧНИХ СІТОК ІЗ ПОКРИТТЯМ НА ОСНОВІ ТАНТАЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ ШЛЯХОМ ЗАСТОСУВАННЯ ОГЛЯДОВОЇ МІКРОСКОПІЇ ПРЕПАРАТІВ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЇ У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Нами було визначено морфологічні особливості передньої черевної стінки щурів контрольних груп та після проведеного оперативного втручання із застосування поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних (оксиду танталу та нітриду танталу).

При оглядовій мікроскопії препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, у щурів інтактної групи (група 1) передня черевна стінка була представлена епідермісом, дермою з підлягаючими гіподермою, шарами м'язової та сполучної тканин (рис. 5.1, 5.2).

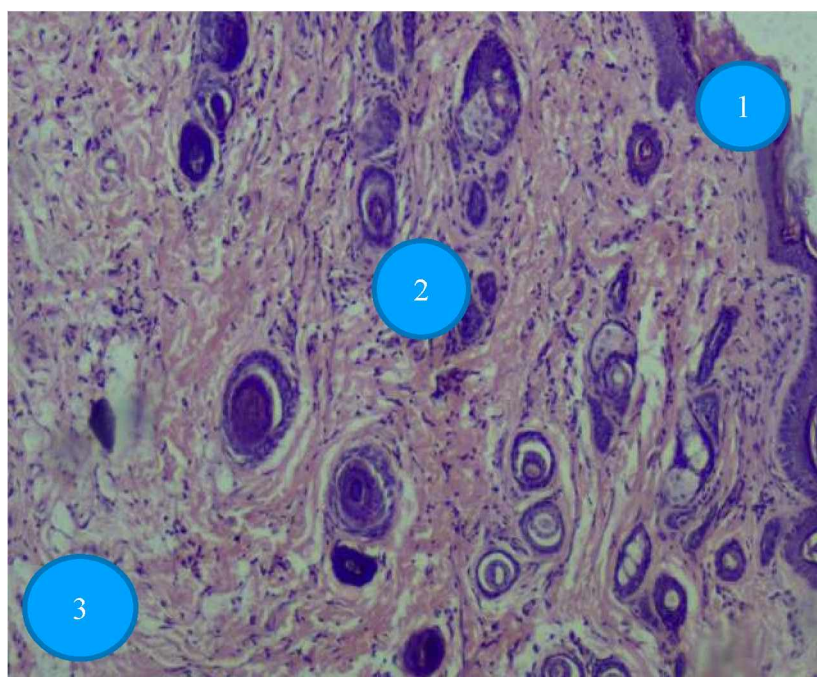


Рис. 5.1. Гістологічна будова передньої черевної стінки щура №5 групи 1: епідерміс (1), дерма (2), поверхневі відділи гіподерми (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$.

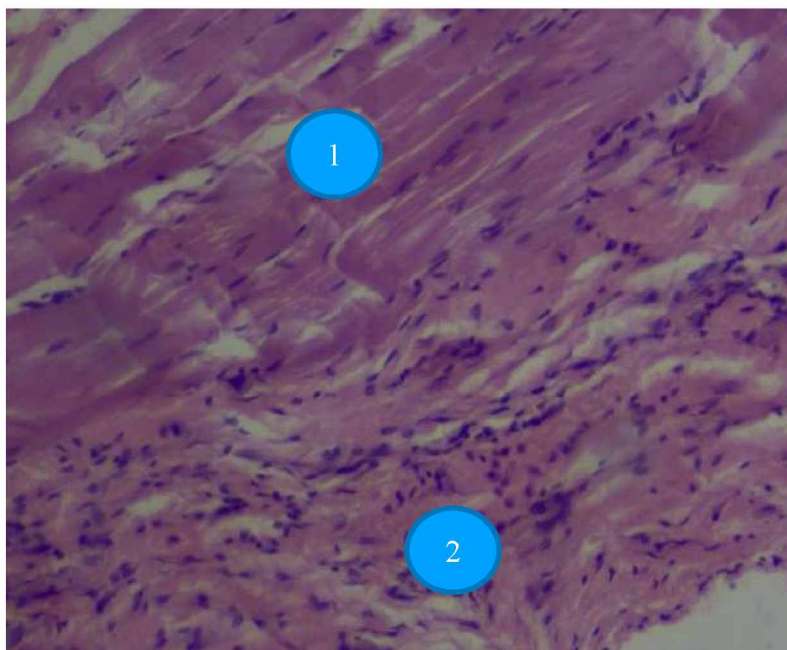


Рис. 5.2. Гістологічна будова передньої черевної стінки щура №5 групи 1: шари м'язової (1) та сполучної (2) тканин. Забарвлення гематоксиліном та еозиноом, $\times 400$.

Епідерміс був представлений багат шаровим плоским епітелієм з вогнищевим гіперкератозом. Епітелій утворював в дермі поверхневі та де-не-де глибокі акантотичні вrostання. Дерма, що розташовувалася за епідермісом, характеризувалася наявністю стоншених та потовщених волокон сполучної тканини, між якими визначалися судини, нервові волокна та додатки шкіри. Щільність розташування сполучнотканинних волокон була різною. При забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном сполучнотканинні волокна були місцями світло червоного, а місцями темно червоного кольору. Додатки шкіри були представлені шкірними залозами та коріннями волос. Де-не-де між сполучнотканинними волокнами, периваскулярно, навкруги додатків шкіри була виявлена вогнищева слабо виражена (+) поліморфна клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, макрофагами та клітинами фібробластичного ряду, що є варіантом норми.

У гіподермі були виявлені жирові клітини, в яких ядра розташовувалися на периферії. Адипоцити приймали округлу або овальну

форму. Групи адипоцитів або окремі адипоцити були розділені між собою волокнами сполучної тканини. Між адипоцитами та волокнами сполучної тканини визначалися судини та нервові волокна. Периваскулярно, периневрально та між сполучнотканинними волокнами ідентифікувалася вогнищева, слабо виражена (+) поліморфна клітинна інфільтрація, представлена, як і в дермі, переважно лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного дифферону.

За гіподермою був виявлений прошарок попереково-смуғастої м'язової тканини (рис. 5.2). Ядра та цитоплазма міоцитів рівномірно забарвлювалися гематоксиліном та еозином. У просторі між м'язовими волокнами, тобто в ендомізії, були виявлені волокна сполучної тканини, судини та нервові волокна. Де-не-де периваскулярно, периневрально та між волокнами сполучної тканини була виявлена слабо виражена (+) клітинна інфільтрація, характеристика якої була подібною до тої, що вже описана в дермі та гіподермі.

За шаром м'язової тканини визначався шар сполучної тканини, волокна якої були переважно потовщені. Проміжки між волокнами були місцями розширені, а місцями приймали щілиноподібну форму. Де-не-де в даному шарі також визначалася вогнищева, слабо виражена (+) клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, макрофагами та клітинами фібробластичного ряду.

У експериментальних тварин, яким було проведено хірургічне втручання без імплантації (група 2), передня черевна стінка характеризувалася наявністю подібних до інтактних тварин шарів. Епідерміс був потовщений, утворював поверхневі акантотичні вростання у дерму (рис. 5.3). У дермі реєструвалися склеротичні зміни, відсутність в більшості полів зору характерних для даного шару шкірних залоз та волосяних фолікулів, проте де-не-де все ж таки вдалося виявити атрофовані додатки шкіри або їх зачатки. Також у дермі була виявлена

дифузна помірна (++) клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, макрофагами та клітинами фібробластичного ряду.

У гіподермі, прошарках м'язової та сполучної тканин були виявлені вогнищеві склеротичні зміни (рис. 5.3). Останні часто ідентифікувалися навкруги шовного матеріалу та при забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном характеризувалися наявністю потовщених, щільно розташованих волокон сполучної тканини темно червоного кольору. В гіподермі, прошарках м'язової та сполучної тканин також реєструвалася вогнищеводифузна, помірна (++) поліморфна клітинна інфільтрація, що була представлена переважно лімфоцитами, макрофагами та клітинами фібробластичного ряду.

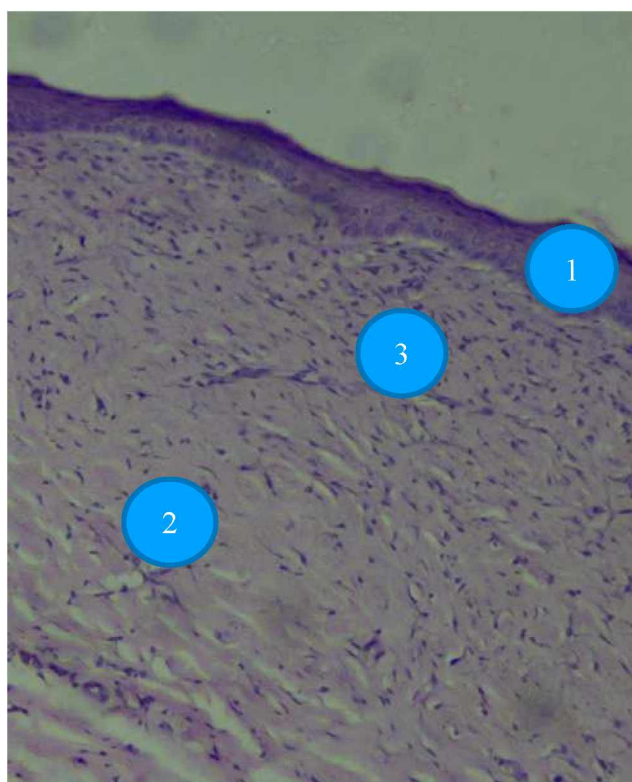


Рис. 5.3. Гістологічна будова передньої черевної стінки щура №4 групи 2. Епідерміс потовщений (1). Склеротичні зміни (2), відсутність додатків шкіри у дермі з наявністю помірної дифузної клітинної інфільтрації (3), представлена лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного ряду. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$.

Отже, в результаті проведеної оглядової мікроскопії було виявлено повне загоєння дефекту передньої черевної стінки, спричиненого оперативним втручанням. Епітелізація сформованого регенерату в області дефекту з наявністю в регенераті додатків шкіри або їх зачатків свідчить про органотипове загоєння, коли, як відомо, відбувається заміщення дефекту шкіри регенератом, що повністю відповідає будові шкіри.

При дослідженні мікропрепаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, у всіх експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі танталу (група 3), епідерміс був потовщений, утворював акантотичні вrostання в дерму. В останній реєструвалися поля склерозу, атрофовані додатки шкіри або їх зачатки, помірна (++) дифузна клітинна інфільтрація, яка була представлена лімфоцитами, макрофагами та клітинами фібробластичного дифферону. Вогнищеві склеротичні зміни реєструвалися у гіподермі, прошарках м'язової та сполучної тканин. В останніх також була виявлена місцями вогнищева, а місцями дифузна поліморфна клітинна інфільтрація (++)), що була представлена, як і в дермі, лімфоцитами, макрофагами та клітинами фібробластичного ряду. За шаром сполучної тканини розташовувалася зріла грануляційна тканина, що обростала хірургічну сітку та вrostала в її отвори (рис. 5.4). Зріла грануляційна тканина характеризувалася вираженим превалюванням волокнистого компоненту над судинним та клітинним компонентами. Товщина шару грануляційної тканини становила 1532,924 [1466,473; 1621,25] мкм.

При імуногістохімічній реакції з МКА до CD34 у грануляційній тканині були виявлені судини з ендотеліоцитами, які набували коричневого кольору, що свідчило про позитивну реакцію (рис. 5.5). Кількість судин у грануляційній тканині у полі зору мікроскопа $\times 100$ становила 16 [14; 17].

При імуногістохімічному дослідженні з МКА до p53 та Ki-67 у грануляційній тканині реєструвалася їх експресія клітинами фібробластичного ряду, імунними клітинами та ендотеліоцитами судин (рис. 5.6). Абсолютна кількість Ki-67- позитивних клітин (47 [46; 54]) превалювала ($p < 0,05$) над абсолютною кількістю p53-позитивних клітин (32 [28; 35]).

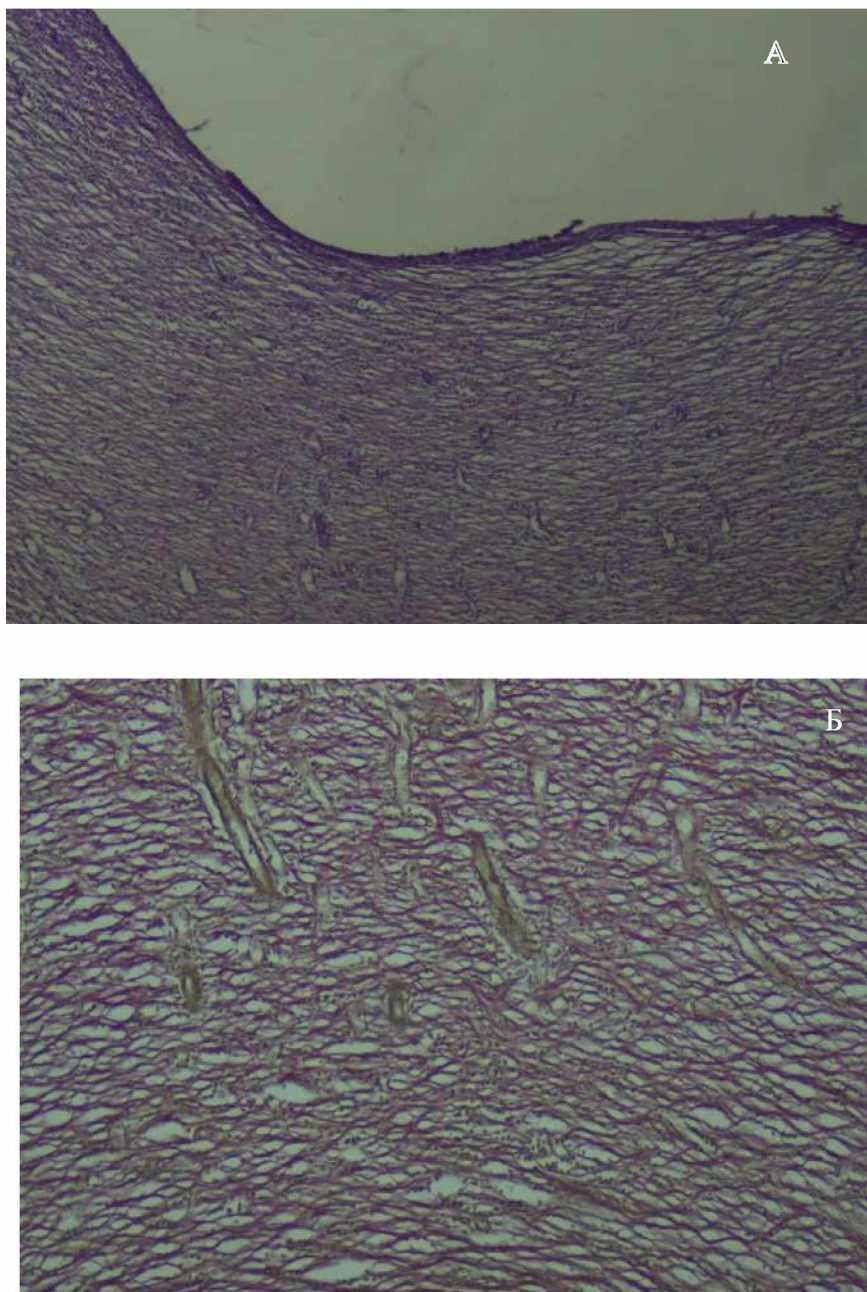


Рис. 5.4. Зріла грануляційна тканина, що обростає хірургічну сітку та вростає в її отвори, у щура №2 групи 3. Зabarвлення гематоксилином та еозином (а), пікрофуксином за ван Гізоном (б), $\times a$ 40, $\times b$ 100.

Отже, проведене морфологічне дослідження показало, що рана, яка утворилася в результаті оперативного втручання, повністю загоюється, причому дефект заміщується регенератом, який практично відповідає будові шкіри, а навкруги хірургічної сітки утворюється зріла грануляційна тканина, яка обростає і вростає в її отвори, та характеризується превалюванням проліферативних процесів над апоптотичними.

Проведений порівняльний аналіз із групою експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку без покриття (група б), засвідчив, що використання хірургічної сітки, покритої танталом, стимулює процеси загоєння рани та призводить до формування навкруги сітки шару зрілої грануляційної тканини, що характеризується більшою ($p < 0,05$) товщиною; меншою ($p < 0,05$) кількістю p53-позитивних клітин та більшою кількістю Ki-67-позитивних клітин; більшою ($p < 0,05$) кількістю судин, що, відповідно, покращує трофіку даної тканини, сприяє швидкому її дозріванню та перетворенню у сполучну тканину.

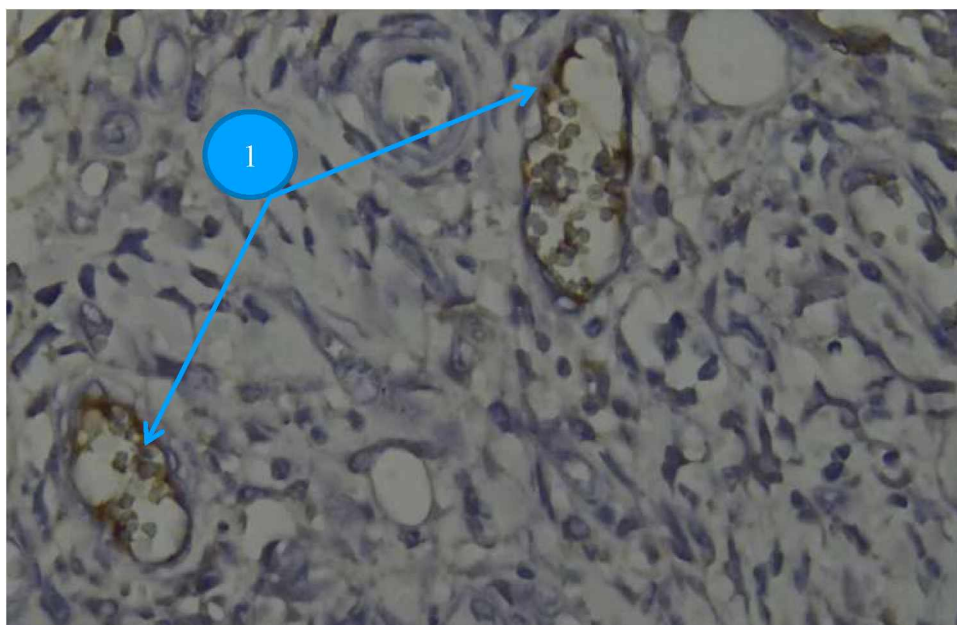


Рис. 5.5. Експресія CD34 ендотеліоцитами судин (1) грануляційної тканини у щура №2 групи 3. Імуногістохімічна реакція з МКА до CD34, $\times 400$.

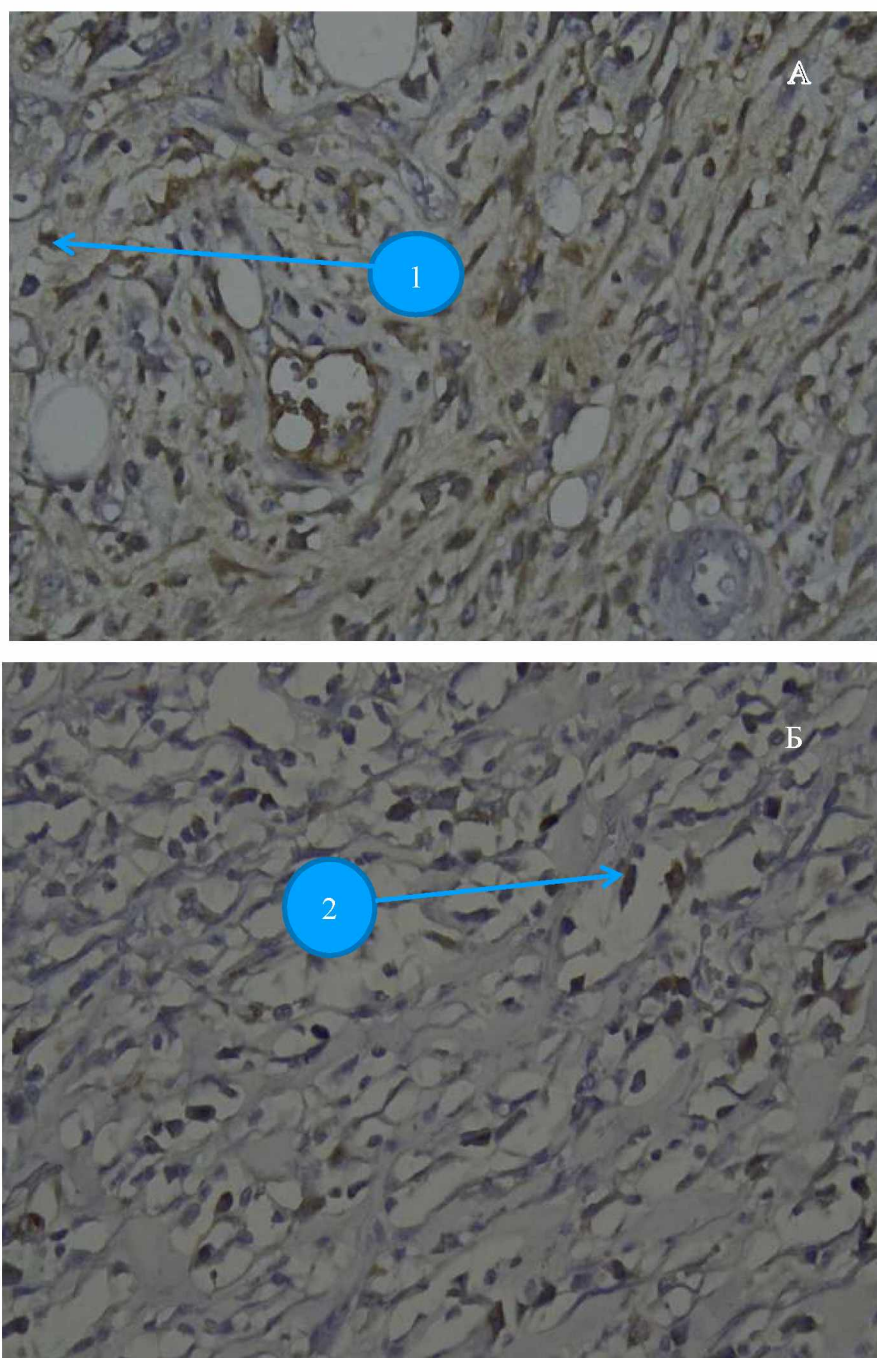


Рис. 5.6. Експресія Ki-67 (а) (1) та p53 (б) (2) у грануляційній тканині, що сформована навкруги хірургічної сітки, у щура № 2 групи 3. Імунопозитивні клітини мають коричневий колір. Імуногістохімічна реакція з МКА до Ki-67 (а), p53 (б), а) $\times 400$, б) $\times 400$.

В сучасній науковій літературі також зазначено, що тантал стимулює загоєння ран м'яких тканин шляхом активації проліферативного потенціалу фібробластів [182]; стимуляції неоваскулогенезу, що, відповідно, покращує трофіку тканин [183.] та ін. Численні дослідження

довели, що тантал також стимулює репаративний остеогенез у кістках різної локалізації [184,185].

У експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі оксиду танталу (група 4), епідерміс був потовщений, утворював акантотичні вросання в дерму та повністю покривав поверхню регенерату. В дермі були виявлені склеротичні зміни, зменшені в розмірах додатки шкіри, помірна (++) вогнищеводифузна клітинна інфільтрація. Остання була представлена переважно клітинами фібробластичного ряду, лімфоцитами та макрофагами. В гіподермі, прошарках м'язової та сполучної тканин реєструвалися вогнищеві склеротичні зміни та вогнищеводифузна клітинна інфільтрація, що була подібна до тої, що вже описана в дермі.

Виражений шар зрілої грануляційної тканини, що розташовувався за шаром сполучної тканини, обростав та вростав в отвори хірургічної сітки (рис. 5.7). Товщина шару грануляційної тканини становила 1496,35 [1447,758; 1522,85] мкм.

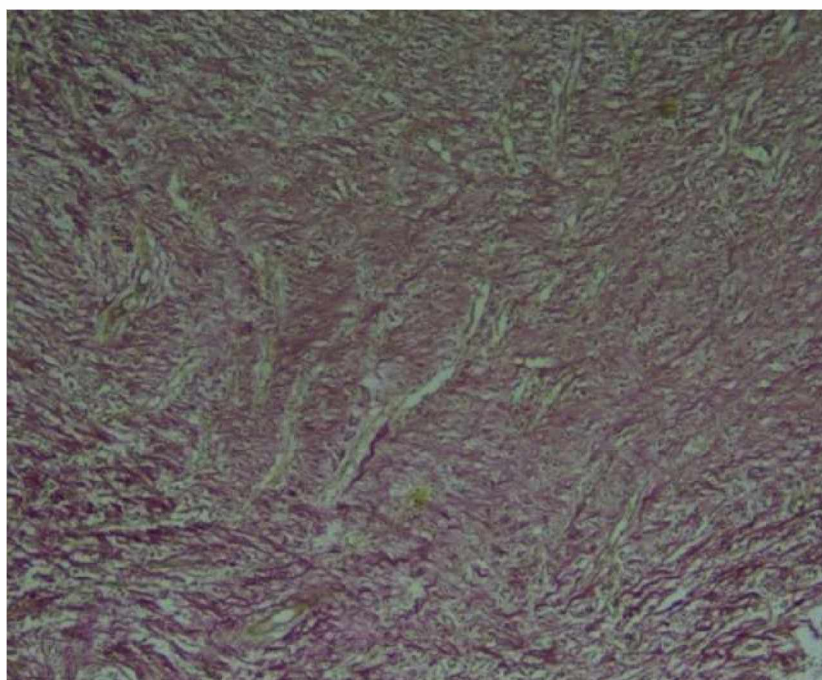


Рис. 5.7. Зріла грануляційна тканина, що формується навкруги хірургічної сітки та вростає в її отвори, у щура №1 групи 4. Забарвлення пікрофуксиномза ван Гізеном, $\times 40$.

При імуногістохімічній реакції з МКА до CD34 відмічалася експресія даного маркера ендотеліоцитами судин грануляційної тканини, кількість яких у полі зору мікроскопа $\times 100$ становила 16 [15; 18] (рис. 5.8).

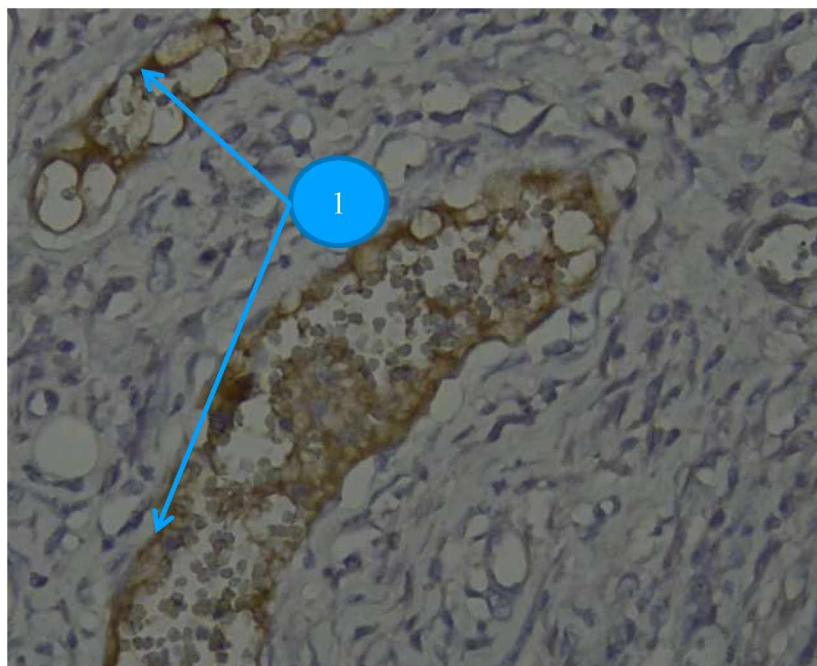


Рис. 5.8. Експресія CD34 ендотеліоцитами судин (1) грануляційної тканини у щура №1 групи 4. Імуногістохімічна реакція з МКА до CD34, $\times 400$.

У грануляційній тканині також реєструвалася експресія МКА до p53 та Ki-67. Абсолютна кількість Ki-67-позитивних клітин (46 [45; 55]) була значно більшою ($p < 0,05$) порівняно з абсолютною кількістю p53-позитивних клітин (32 [28; 35]). Морфологічних ознак спайкового процесу не було виявлено.

Отже, під час проведеного дослідження в даній групі порівняно з експериментальними тваринами, яким було імплантовано сітку без покриття (група 6), було виявлено органотипове загоєння рани та формування шару зрілої грануляційної тканини з превалювання процесів проліферації над процесами апоптоза, товщина якого була значно більшою ($p < 0,05$). У даній групі порівняно з групою 6 кількість судин у шарі грануляційної тканини, що сформувалася навкруги хірургічної сітки, була

більшою ($p < 0,05$), кількість клітин, що знаходяться в стані апоптозу та проліферації, відповідно, меншою ($p < 0,05$) та більшою ($p < 0,05$).

У випадках застосування хірургічної сітки на основі оксиду танталу морфологічні особливості загоєння рани, товщина шару зрілої грануляційної тканини, що формувалася навкруги сітки, з наявною кількістю в ній судин, Ki-67- та p53-позитивних клітин не відрізнялися ($p > 0,05$) порівняно з випадках, коли застосовувалася хірургічна сітка, покрита танталом.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі нітриду танталу (група 5) епідерміс був потовщений. В дермі додатки шкіри не зустрічалися, реєструвалися склеротичні зміни, сильно виражена (+++++) поліморфна інфільтрація, що характеризувалася наявністю лімфоцитів, макрофагів, клітин фібробластичного ряду, нейтрофільних лейкоцитів. На тлі запальних змін у дермі також були виявлені помірно виражені (+++) ознаки порушення кровообігу, що маніфестували набряковими змінами, повнокрів'ям судин та де-не-де крововиливами. В глибоких відділах дерми, що прилягала до гіподерми, були виявлені вогнища грануляційної тканини різного ступеня зрілості. У гіподермі були виявлені подібні до дерми загальнопатологічні процеси: помірно виражені (+++) гемодинамічні порушення; сильно виражена (+++++) дифузна поліморфна клітинна інфільтрація; вогнища зрілої та незрілої грануляційної тканини. У прошарку м'язової тканини реєструвалися ішемічні, дистрофічні, некротичні зміни м'язових волокон, а також їх хвилеподібна деформація; помірно виражені (+++) гемодинамічні порушення; сильно виражена (+++++) дифузно-вогнищева інфільтрація, що була представлена нейтрофільними лейкоцитами, лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного ряду; вогнища зрілої та незрілої грануляційної тканини.

У сполучній тканині, що розташовувалася за шаром м'язової тканини, виявлена дифузна клітинна інфільтрація (+++++), що також

характеризувалася наявністю нейтрофільних лейкоцитів, лімфоцитів, макрофагів та клітин фібробластичного дифферону.

За шаром сполучної тканини було виявлено незрілу грануляційну тканину, яка обростала та вросла в отвори хірургічної сітки. Знаковим для даного шару була наявність великої кількості багатоядерних гігантських клітин сторонніх тіл та виражених (++++) гемодинамічних порушень. Товщина шару грануляційної тканини становила 1003,749 [887,535; 1041,892] мкм.

При імуногістохімічній реакції з МКА до CD34 була виявлена експресія даного маркера ендотеліоцитами судин грануляційної тканини. Кількість судин у полі зору мікроскопа $\times 100$ становила 9 [8; 12].

У грануляційній тканині МКА до p53 та Ki-67 експресували подібні до попередніх груп структурні елементи (рис. 5.9, 5.10). Абсолютна кількість p53-позитивних клітин (58 [50; 63]) була більшою ($p < 0,05$) порівняно з абсолютною кількістю Ki-67-позитивних клітин (37 [33; 40]).

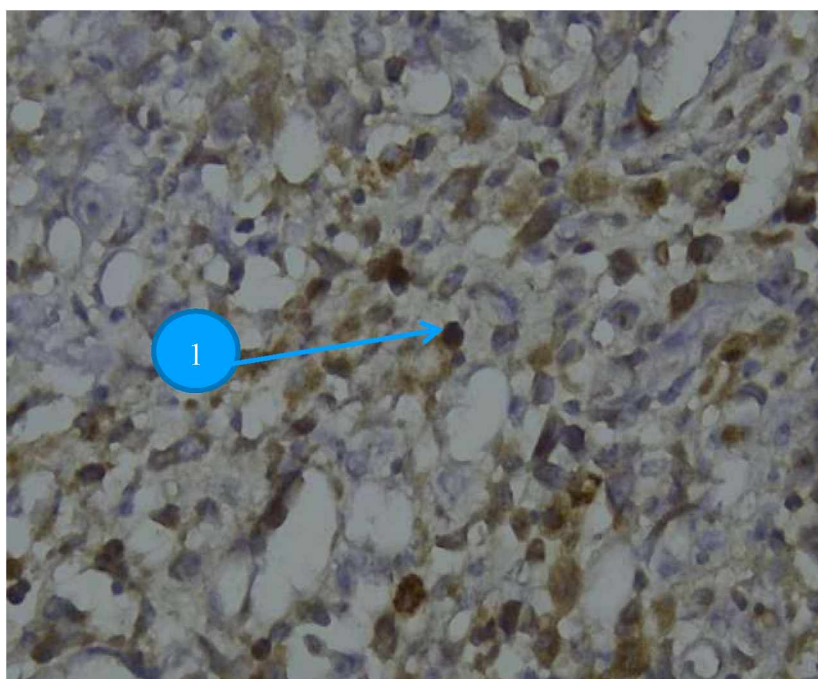


Рис.5.9. Експресія p53 (1) у грануляційній тканині, що сформована навкруги сітки, у щура №6 групи 5. Імуногістохімічна реакція з МКА до p53, $\times 400$.

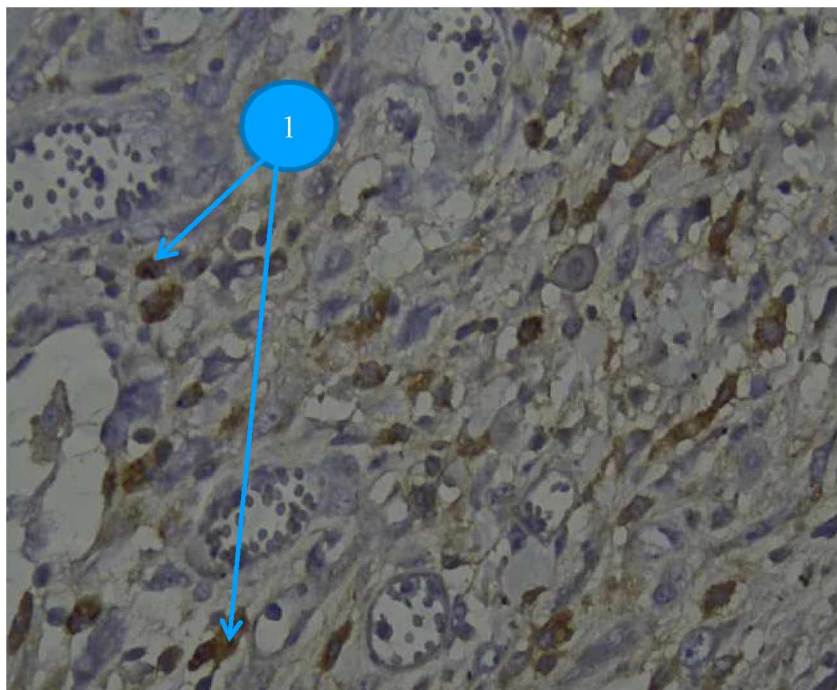


Рис. 5.10. Експресія Ki-67 (1) у грануляційній тканині, що сформована навкруги сітки, у щура №6 групи 5. Імуногістохімічна реакція з МКА до Ki-67, $\times 400$.

У всіх тварин даної групи експериментальних тварин за шаром незрілої грануляційної тканини, що оточувала хірургічну сітку, відмічався гнійний або фібринозно-гнійний ексудат (рис. 5.11). В 6 випадках (85,7%) гнійний ексудат виходив назовні через сформований норицевий хід. У вище зазначених випадках в 2 випадках (33,3%) було виявлено формування декількохнорицевих ходів.

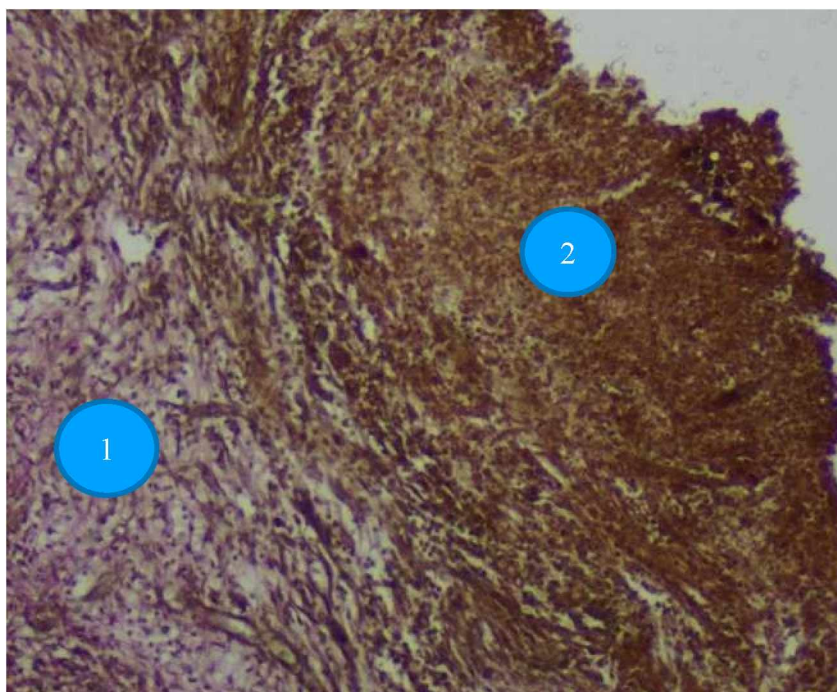


Рис. 5.11. Незріла грануляційна тканина (1), до якої прилягає гнійний або фібринозно-гнійний ексудат (2), у щура №6 групи 5. Зabarвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 100$.

В усіх випадках групи 5 до шару грануляційної тканини було виявлено щільне прилягання брижі кишечника. В останній відмічалися виражені (+++++) гемодинамічні порушення; сильно виражена (+++++) дифузна клітинна інфільтрація, що характеризувалася наявністю нейтрофільних лейкоцитів, лімфоцитів, макрофагів, багатоядерних гігантських клітин сторонніх тіл та клітин фібробластичного ряду.

Отже, оперативне втручання на передній черевній стінці з імплантацією хірургічної сітки, покритої нітридом танталу, спричиняє розвиток виражених запальних змін, помірно виражених або виражених гемодинамічних порушень, пригнічення морфо-функціональної активності клітин фібробластичного дифферону, дозрівання грануляційної тканини, що характеризується превалювання процесів апоптозу над проліферативними процесами, та розвиток спайкового процесу.

Описана морфологічна характеристика процесів загоєння рани у експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з

покриттям на основі нітриду танталу (група 5) подібна до тої, що була визначена у випадках проведення оперативного втручання з підшиванням хірургічної сітки без покриття (в групі 6). У групі 5 порівняно з групою 6 у незрілій грануляційній тканині, що формувалася навкруги хірургічної сітки, не мали ($p > 0,05$) значимих відмінностей її товщина, наявна кількість у ній судин, а також кількість клітин, що знаходяться у стані апоптозу та проліферації.

У експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічні сітки без покриття, у ділянці проведеного оперативного втручання епідерміс був потовщений, формував поверхневі та глибокі акантотичні вrostання в дерму. В дермі додатки шкіри не визначалися, на тлі склеротичних змін була виявлена дифузна сильно виражена (+++++) поліморфна клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного ряду та нейтрофільними лейкоцитами (рис.5.12).

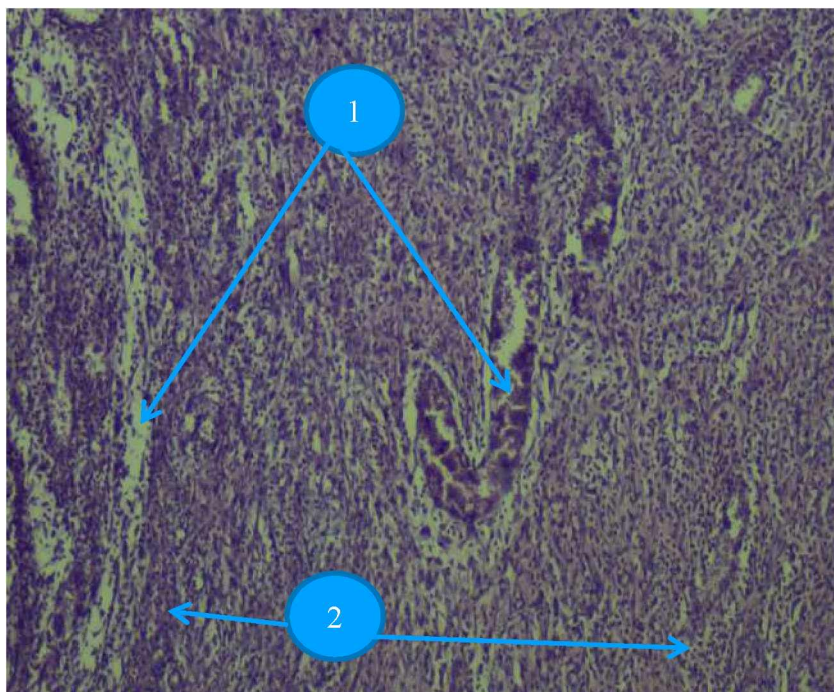


Рис. 5.12. Додатки шкіри не визначаються. Гемодинамічні порушення (1) в дермі та дифузна сильно виражена поліморфна клітинна інфільтрація (2) у щура №1 групи 6. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$.

Характерним для даного шару була наявність помірно виражених (+++) гемодинамічних порушень, які маніфестували набряком та повнокрів'ям судин.

У шарах дерми, що прилягали до гіподерми, визначалися локуси грануляційної тканини. Остання в частині полів зору була зрілою, про що свідчило виражене превалювання волокнистого компонента над судинним та клітинним компонентами; в деяких полях зору – незрілою, про що свідчило превалювання в ній судинного та клітинного компонентів над волокнистим. Волокнистий компонент характеризувався наявністю сполучнотканинних волокон, які при забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном мали різні відтінки червоного кольору (від світло червоного до темно червоного).

Судинний компонент характеризувався наявністю повнокровних судин. Клітинний компонент був представлений клітинами фібробластичного дифферону, лімфоцитами, макрофагами, нейтрофільними лейкоцитами. У гіподермі реєструвалися вогнища грануляційної тканини, яка в частині полів зору була зрілою, а в частині – незрілою. Також у даному шарі були виявлені ознаки порушення кровообігу (+++), представлені набряком, повнокрів'ям судин та формуванням дрібновогнищевих крововиливів; дифузна сильно виражена (++++) поліморфна клітинна інфільтрація, яка була подібна до тої, що вже описана в дермі.

У м'язових волокнах м'язового шару були виявлені ішемічно-дистрофічні та некротичні зміни, хвилеподібна деформація та контрактурні зміни міофібрил (рис. 5.13). Також характерними гістологічними знахідками для даного шару були помірно виражені (+++) гемодинамічні порушення; сильно виражена (++++) дифузно-вогнищева клітинна інфільтрація, що характеризувалася наявністю нейтрофільних лейкоцитів, лімфоцитів, макрофагів та клітин фібробластичного ряду; наявність вогнищ зрілої та незрілої грануляційної тканини.

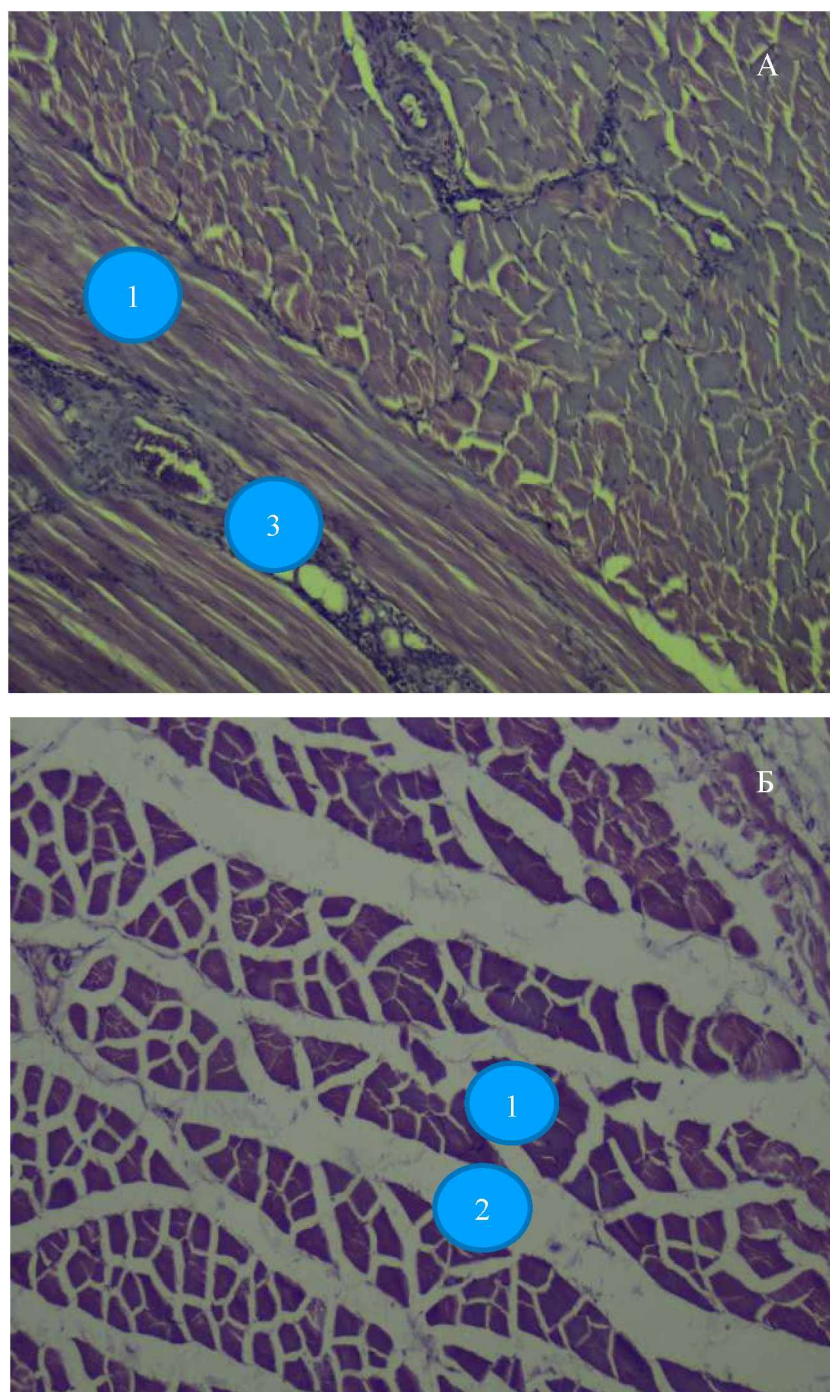


Рис. 5.13. Ішемічно-дистрофічні та некротичні зміни м'язових волокон (1), гемодинамічні порушення (2) та вогнищева поліморфна клітинна інфільтрація (3) у м'язовому шарі у щура №1 групи б. Забарвлення гематоксилином та еозином, а) $\times 100$, б) $\times 100$.

До шару м'язової тканини прилягав шар сполучної тканини з вираженою (+++++) дифузною клітинною інфільтрацією, що характеризувалася наявністю нейтрофільних лейкоцитів, лімфоцитів, макрофагів, кліти фібробластичного дифферону. В зазначеній локалізації,

як і в шарі м'язової тканини, кількість клітин фібробластичного дифферону була меншою порівняно з дермою та гіподермою

За шаром сполучної тканини ідентифікувався шар незрілої грануляційної тканини, що обростала хірургічну сітку та вросла в її отвори. Грануляційна тканина характеризувалася помірно вираженими (+++) та де-не-де вираженими (++++) гемодинамічними порушеннями. Часто в грануляційній тканині відмічалися багатоядерні гігантські клітини сторонніх тіл. Товщина шару грануляційної тканини становила 956,67 [899,52; 1012,158] мкм.

При імуногістохімічній реакції з МКА до CD34 реєструвалася експресія даного маркера ендотеліоцитами судин грануляційної тканини. Ендотеліоцити, що експресували даний маркер, набували коричневого кольору. Кількість судин у полі зору мікроскопа $\times 100$ становила 9 [8; 10] (рис. 5.14).

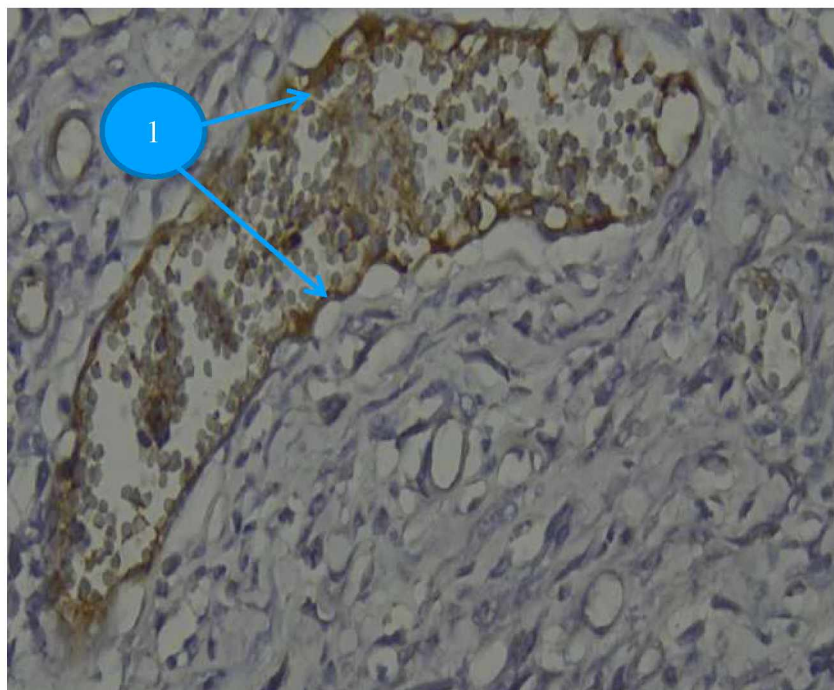


Рис. 5.14 Експресія CD34 ендотеліоцитами судин (1) грануляційної тканини у щура №1 групи 6. Імуногістохімічна реакція з МКА до CD34, $\times 400$.

У грануляційній тканині при імуногістохімічному дослідженні з МКА до p53 та Ki-67 була виявлена їх експресія клітинами фібробластичного ряду, імунними клітинами та ендотеліоцитами судин (рис. 5.15).

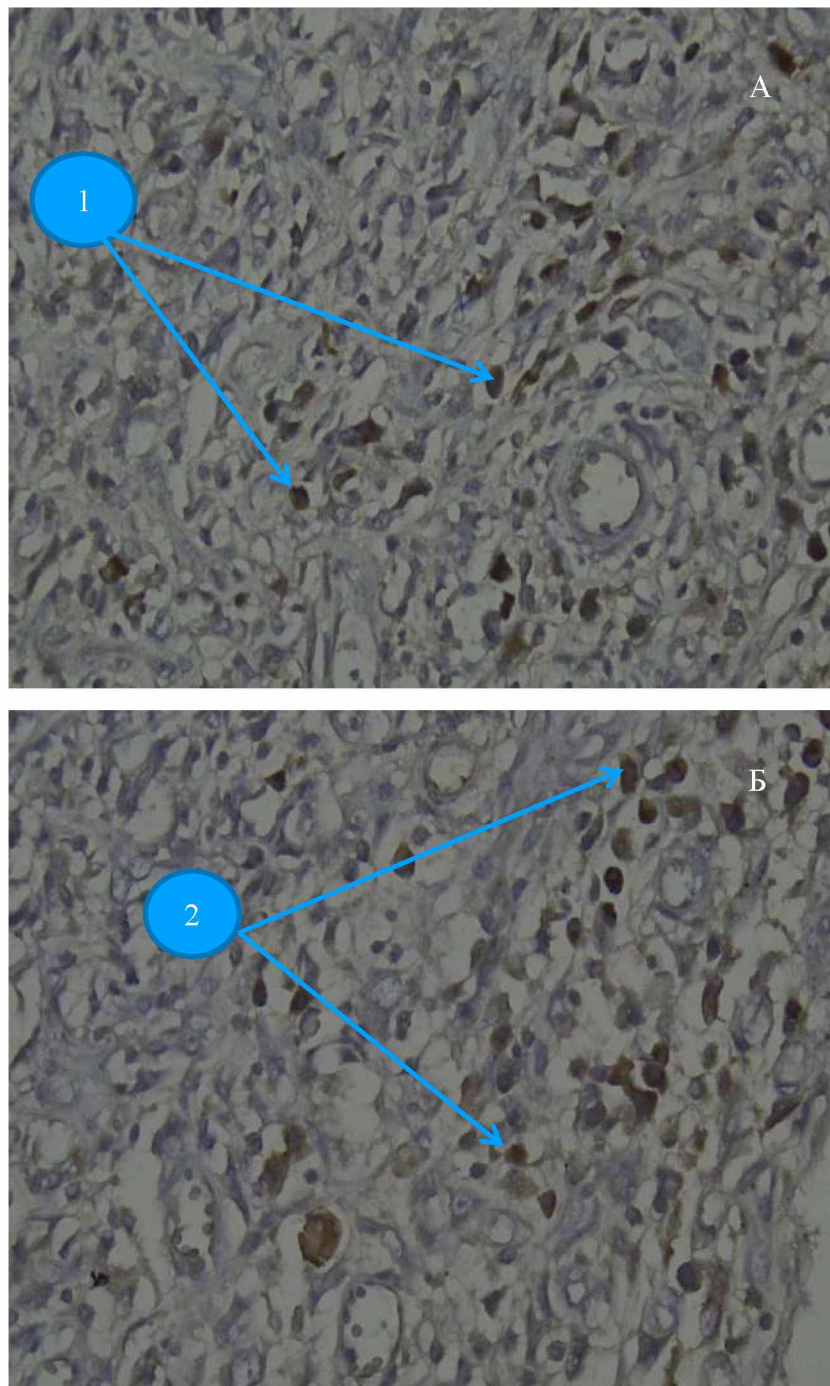


Рис. 5.15. Експресія p53 (а) (1) та Ki-67 (б) (2) клітинами фібробластичного ряду, імунними клітинами та ендотеліоцитами судин у грануляційній тканині щура №1 групи б. Імуногістохімічна реакція з МКА до p53 (а), Ki-67 (б), а) $\times 400$, б) $\times 400$.

Абсолютна кількість p53-позитивних клітин (57 [53; 62]) була більшою ($p < 0,05$) порівняно з абсолютною кількістю Ki-67-позитивних клітин (36 [29; 40]).

У шести тварин (85,7%) групи 6 до шару грануляційної тканини прилягав шар гнійного та гнійно-фібринозного ексудату (рис. 5.16). У п'яти тварин (71,4%) було виявлено вихід гнійного ексудату назовні (на поверхню епідермісу) через сформований звивистий норицевий хід (рис. 5.17).

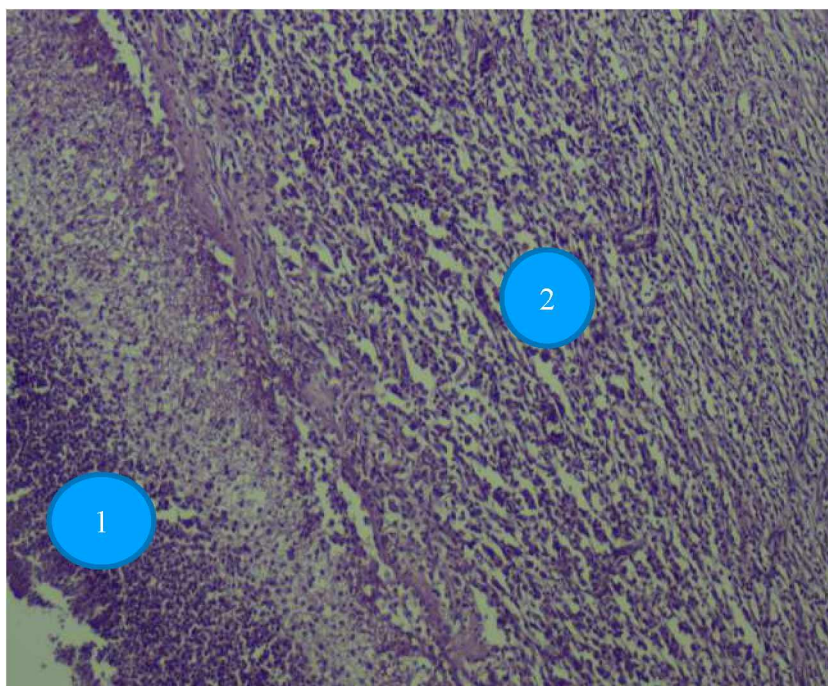


Рис. 5.16. Гнійний та гнійно-фібринозний ексудат (1) прилягає до шару грануляційної тканини (2), що обростає хірургічну сітку та росте в її отвори, щура №1 групи 6. Забарвлення гематоксилином та еозином, $\times 100$.

В усіх випадках даної групи до грануляційної тканини, що формувалася навкруги хірургічної сітки та вросла в її отвори, щільно прилягали фрагменти брижі кишечника (рис. 5.18), що свідчило про розвиток спайкового процесу. В брижі кишечника були виявлені помірно виражені (+++) та де-не-де виражені (+++++) гемодинамічні порушення, що характеризувалися набряком, повнокрів'ям судин та дрібновогнищевими крововиливами; сильно виражена (+++++) дифузна клітинна інфільтрація, що характеризувалася наявністю нейтрофільних

лейкоцитів, лімфоцитів, макрофагів, багатоядерних гігантських клітин сторонніх тіл, клітин фібробластичного ряду.

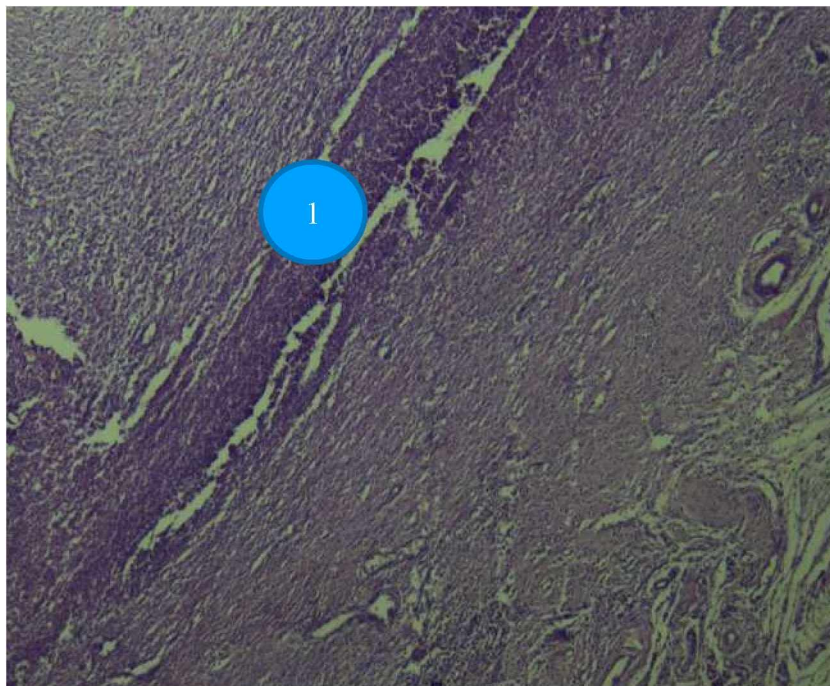


Рис. 5.17. Норицевій хід (1) у дермі щура №1 групи 6. Зabarвлення гематоксиліном та еозином, $\times 40$.

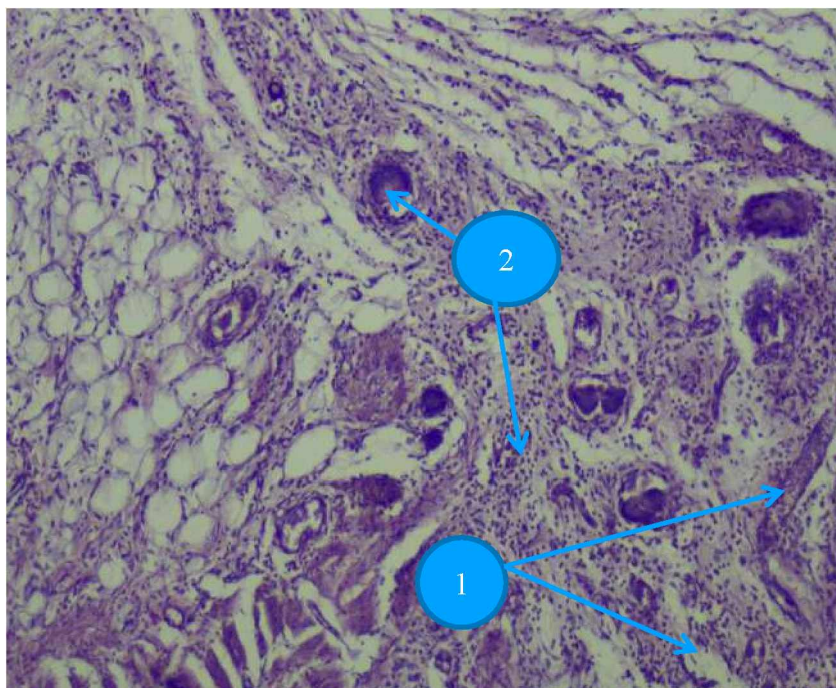


Рис. 5.18 Брижа кишечника, що прилягає до грануляційної тканини, з ознаками порушення кровообігу (1) та дифузною клітинною інфільтрацією (2) щура №1 групи 6. Зabarвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$.

Отже, проведені морфологічні дослідження в групі 6 виявили, що підшивання до внутрішньої поверхні передньої черевної стінки хірургічної сітки без будь-якого покриття призводить до розвитку сильно виражених запальних змін, пригноблення процесів загоєння рани (порівняно з групою 2), про що, в тому числі, говорить відсутність додатків шкіри у дермі, у зв'язку зі зниження морфо-функціонального стану клітин фібробластичного ряду та зменшенням їх кількості, слабкою інтенсивністю процесів дозрівання грануляційної тканини навкруги хірургічної сітки, в якій процеси апоптозу превалювали над процесами проліферації, та розвитку спайкового процесу.

Морфологічно обґрунтовано використання хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та оксиду танталу. Спостерігається стимуляція процесів загоєння рани та навкруги хірургічної сітки формується шар зрілої грануляційної тканини з більшою ($p < 0,05$) товщиною, меншою ($p < 0,05$) кількістю p53-позитивних та більшою кількістю Ki-67-позитивних клітин ($p < 0,05$). Визначено превалювання проліферативних процесів над апоптотичними. При застосуванні хірургічних сіток на основі нітриду танталу та сіток без покриття відбувається переважання апоптотичних процесів надпроліферативними.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Із наукової літератури відомо, що розвиток оксидативного стресу спостерігається у пацієнтів у перші 7 діб після оперативного втручання при герніопластиці. У 30-40 % пацієнтів це призводить до розвитку спайкового та гнійно-септичних процесів у місці імплантації поліпропіленової хірургічної сітки, що вимагає повторного хірургічного втручання та збільшення часу на відновлення пацієнтів у післяопераційному періоді [186].

У деяких наукових роботах описуються особливості генерації АФК лейкоцитами крові, видів клітинної смерті лейкоцитів, синтезу білків «гострої фази» та порушення стану оксидантно - антиоксидантної системи при оперативному втручанні за умов імплантації поліпропіленової хірургічної сітки з приводу пахової грижі [187,188]. Однак, наразі бракує визначення даних показників при імплантації хірургічних сіток із сучасними покриттями, а саме з покриттями на основі танталу та його похідних: оксиду та нітриду танталу. Ми одними з перших у світі використали дані покриття для модифікації поліпропіленової хірургічної сітки за допомогою реактивного магнетронного нанесення з метою підвищення її біосумісності. Нанесення покриттів було здійснено на базі Фізико - технічного факультету Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна за допомогою реактивного магнетронного розпилення.

Після проведення нами оперативного втручання з імплантацією поліпропіленових сіток із різними видами покриттів ми визначали генерацію АФК та види клітинної смерті лейкоцитів крові. Отримані результати генерації АФК лейкоцитами крові у групах експериментальних тварин із використанням покриттів на основі танталу та оксиду танталу продемонстрували багатообіцяючий результат, який дозволяє знизити ризик виникнення спайкового процесу після імплантації та при цьому

вказали на виїняткові протизапальні властивості, що характерні для покриттів на основі танталу (розділ № 3). Аналіз видів клітинної смерті лейкоцитів крові за допомогою цитофлюорометрії підтвердив отримані нами дані генерації АФК, продемонструвавши нам незначне підвищення пізньоапоптичних та некротичних клітин у порівнянні з групами контролю, що підтверджує наявну біосумісність для даного виду імплантів у порівнянні із сітками без покриття (розділ № 3).

Відомо, що імплантація хірургічних сіток при герніопластиці призводить до секреції прозапальних цитокінів, а саме ІЛ-1 β та ІЛ-6 (рис. 6.1), які активують процеси апоптозу в організмі та розвиток запальних процесів (розділ № 4).

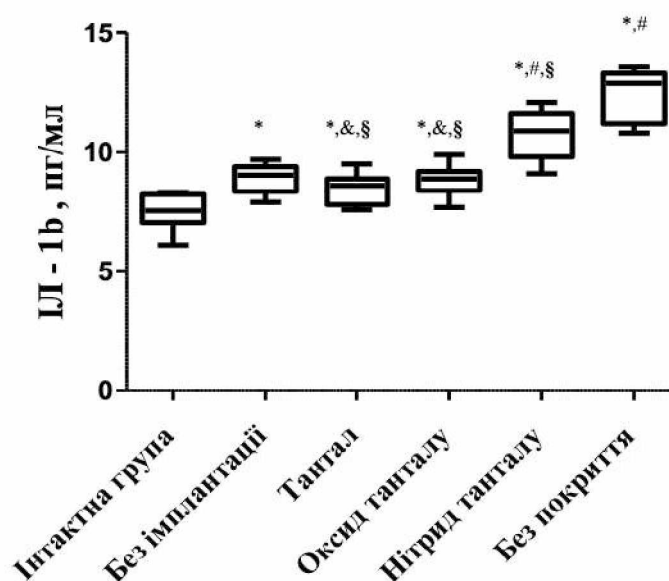


Рисунок 6.1. Вміст ІЛ-1 бета (пг/мл) у плазмі крові інтактних щурів та через 28 діб після хірургічного втручання з використанням різних типів покриттів. Примітка: * - значима відмінність порівняно з показниками групи 1; # - з показниками групи 2; & - з показниками групи 5; § - з показниками групи 6.

Хоча дані цитокіни мають вирішальне значення для імунної відповіді організму при хірургічному втручанні, їх надмірна продукція сприяє розвитку хронічних запальних процесів в організмі [189]. Активація процесів апоптозу лейкоцитів прозапальними цитокінами може бути

направлена на зниження інтенсивності запального процесу у місці імплантації, оскільки апоптоз має за мету протизапальну дію [190]. У групах щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям танталу та оксиду танталу відзначався помірний синтез прозапальних цитокінів, що є фізіологічною реакцією організму на імплантацію чужорідного тіла та механічне пошкодження тканин організму під час оперативного втручання.

Прозапальні цитокіни відіграють ключову роль у регуляції запального процесу при герніопластиці та їх секреція стимулює синтез СРБ, що є одним із ключових білків «гострої фази» разом із гаптоглобіном і церулоплазміном - основних показників розвитку гострого та хронічного запальних процесів в організмі при імплантації хірургічних сіток. Отримані результати вказували нам на помірне підвищення вмісту білків «гострої фази» при імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу у порівнянні з інтактною групою (рис. 6.2).

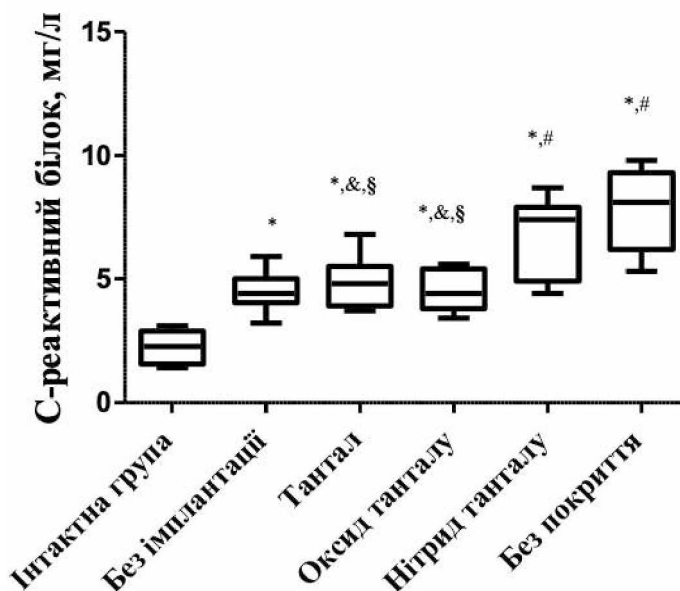


Рисунок 6.2. Вміст С-реактивного білку (мг/л) у плазмі крові інтактних щурів та через 28 діб після хірургічного втручання з використанням різних типів покриттів. Примітка: * - значима відмінність порівняно з показниками групи 1; # - з показниками групи 2; & - з показниками групи 5; § - з показниками групи 6.

Для підтвердження відсутності тривалого запального процесу у місці імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу нами було визначено вміст сіроглікоїдів, які підвищуються повільніше у периферичній крові у відповідь на хірургічне втручання та тривалий час залишаються високими у порівнянні із білками «гострої фази». Даний факт робить визначення вмісту сіроглікоїдів одним з ключових маркерів у нашому дослідженні, враховуючи його тривалість у 28 діб. Отримані результати вмісту сіроглікоїдів у крові щурів продемонстрували виключний протизапальний ефект застосування хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу, що ще раз підтверджує нам їхню біосумісність (рис. 6.3).

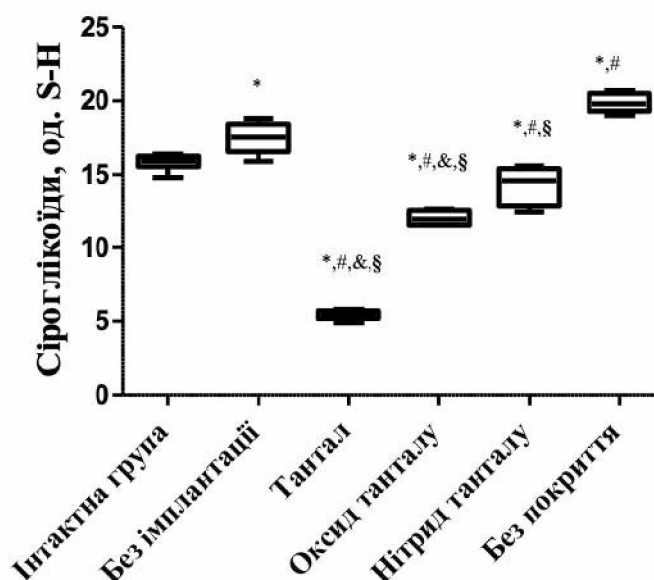


Рисунок 6.3. Вміст сіроглікоїдів (од. за S-H) у плазмі крові інтактних щурів та через 28 діб після хірургічного втручання з використанням різних типів покриттів. Примітка: * - значима відмінність порівняно з показниками групи 1; # - з показниками групи 2; & - з показниками групи 5; § - з показниками групи 6.

Активация процесів ліпідної пероксидації вказує на наявні порушення функціонування оксидантно-антиоксидантної системи, що підтверджується підвищенням 8-ізопростану, як маркеру ПОЛ, у щурів

всіх експериментальних груп. Однак при його визначенні у групах, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі танталу та оксиду танталу спростерігалось помірне його підвищення. Отримані результати під час нашого дослідження узгоджуються з відомими у науковій літературі роботами вчених, які порівнювали різні типи модифікованих поліпропіленових хірургічних сіток та їхню біосумісність [191].

Для оцінки стану антиоксидантної системи ми визначали активність ферментативного ланцюга. Визначення активності каталази та СОД 1 підтвердили порушення у роботі ферментативної ланки антиоксидантної системи, що супроводжувалося підвищенням активності обох ферментів у всіх експериментальних групах (рис 6.4).

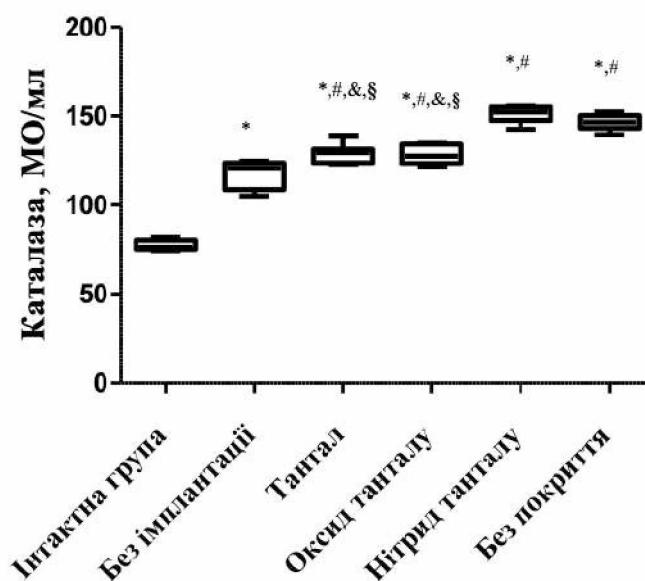


Рисунок 6.4. Активність каталази (ОД/мл) у плазмі крові інтактних щурів та через 28 діб після хірургічного втручання з використанням різних типів покриттів. Примітка: * - значима відмінність порівняно з показниками групи 1; # - з показниками групи 2; & - з показниками групи 5; § - з показниками групи 6.

У той же час, отримані результати даних показників у групах, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі танталу та оксиду танталу не вказували на надмірну активність СОД 1 та каталази у порівнянні із показниками контрольних груп.

Отримані біохімічні показники свідчили нам розвиток оксидативного процесу та наявний тривалий запальний процес у місці імплантації хірургічних сіток без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу, що необхідно було підтвердити за допомогою морфологічного дослідження.

При морфологічному дослідженні було визначено, що при імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та оксиду танталу спостерігалось фізіологічне загоєння післяопераційної рани та заміщення дефекту регенератом, подібним до структури шкіри. По периферії хірургічної сітки відмічалось утворення грануляційної тканини з більшою товщиною, меншою ($p < 0,05$) кількістю р53 - позитивних та більшою кількістю Ki-67 - позитивних клітин ($p < 0,05$), що є характерною ознакою превалюванням проліферативних процесів над апоптотичними.

У той же час, при аналізі отриманих результатів у групах, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу та без покриття ми помітили гіперпродукцію АФК у лейкоцитах у порівнянні із отриманими результатами у групах, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі танталу, оксиду танталу та групами контролю. Аналіз видів клітинної смерті лейкоцитів крові підтвердив отримані дані генерації АФК, продемонструвавши нам значне підвищення вмісту пізньоапоптотичних та некротичних клітин саме у групах, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу та без покриття.

Ми відмітили суттєві зміни вмісту прозапальних цитокінів, а саме ІЛ-1 β та ІЛ-6, в крові експериментальних тварин, яким було імплантовано хірургічну сітку з покриттям на основі нітриду танталу та без покриття

(рис. 6.5). Дані зміни вказували нам на посилення імунної відповіді після проведеного оперативного втручання, що може призводити до порушення гомеостазу, розвитку хронічного запального процесу та виникнення спайок у місці імплантації у післяопераційному періоді.

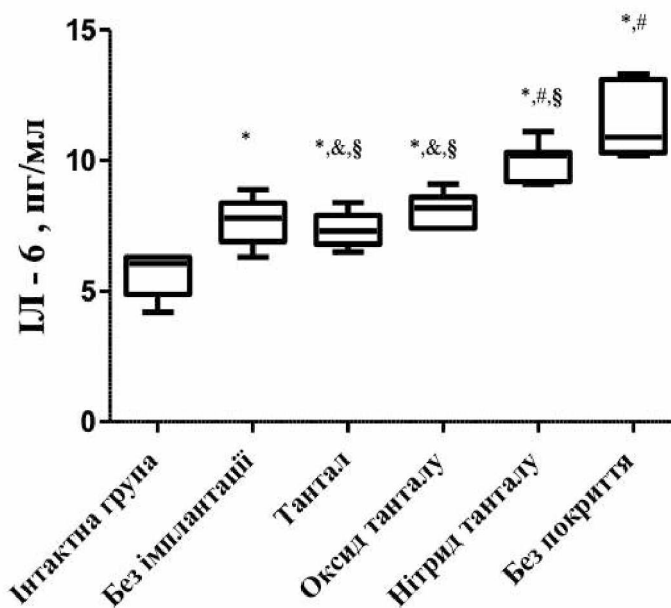


Рисунок 6.5. Вміст ІЛ-6 (пг/мл) у плазмі крові інтактних щурів та через 28 діб після хірургічного втручання з використанням різних типів покриттів. Примітка: * - значима відмінність порівняно з показниками групи 1; # - з показниками групи 2; & - з показниками групи 5; § - з показниками групи 6.

Визначення білків «гострої фази» під час дослідження продемонструвало нам наявність тривалого запального процесу у щурів із імплантованими поліпропіленовими хірургічними сітками з покриттям на основі нітриду титану та без покриття (рис 6.6, 6.7). Отримані нами результати узгоджуються з результатами минулих досліджень, згідно яких різні типи поліпропіленових покриттів можуть провокувати надмірну продукцію білків «гострої фази».

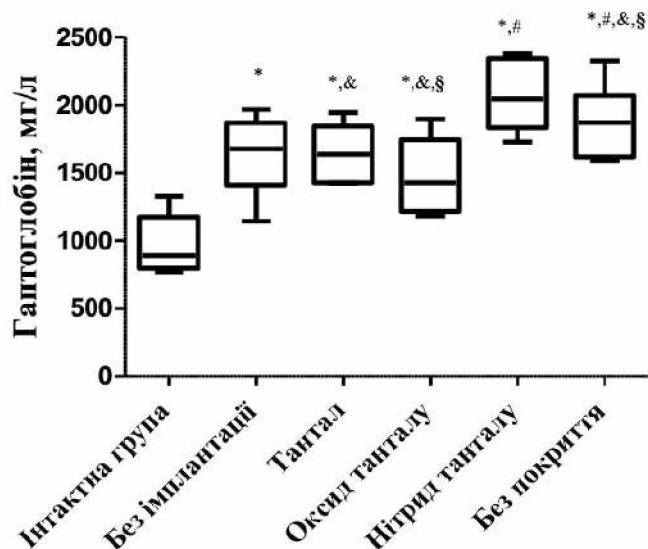


Рисунок 6.6. Вміст гемоглобіну (мг/л) у плазмі крові інтактних щурів та через 28 днів після хірургічного втручання з використанням різних типів покриттів. Примітка: * - значима відмінність порівняно з показниками групи 1; # - з показниками групи 2; & - з показниками групи 5; § - з показниками групи 6.

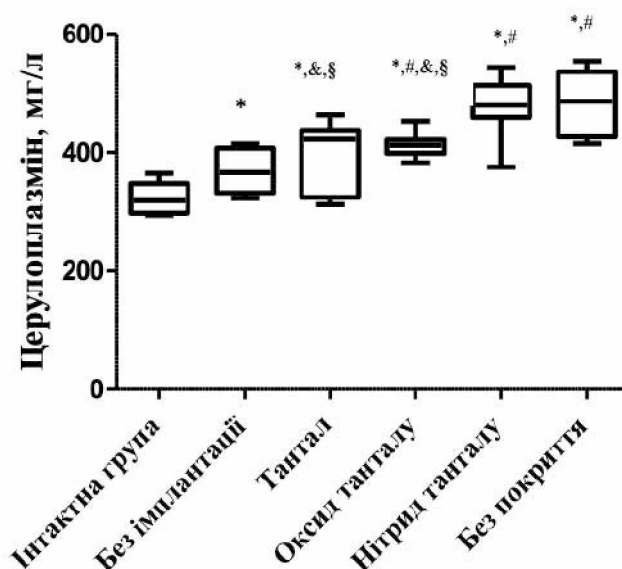


Рисунок 6.7. Вміст церулоплазміну (мг/л) у плазмі крові інтактних щурів та через 28 днів після хірургічного втручання з використанням різних типів покриттів. Примітка: * - значима відмінність порівняно з показниками групи 1; # - з показниками групи 2; & - з показниками групи 5; § - з показниками групи 6.

Для підтвердження тривалого запального процесу у місці імплантації ми визначили вміст сіроглікоїдів периферичної крові, які підтвердили наявність тривалого запального процесу та узгоджувалися з отриманими нами результатами визначення в крові гострофазових показників.

Нами було визначено, що при імплантації поліпропіленових хірургічних сіток з покриттям на основі нітриду танталу та без покриття спостерігалася активація вільнорадикальних процесів та інтенсивна активація ліпідної пероксидації у порівнянні з результатами групою контролю. Визначення активності каталази та СОД 1 у даних групах підтвердили наявні порушення у роботі оксидантно - антиоксидантної системи більш виразними змінами даних показників, що може вказувати на їх компенсаторні властивості при гіперпродукції АФК лейкоцитами периферичної крові.

При морфологічному дослідженні було визначено, що при імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі нітриду танталу та хірургічні сітки без покриття виявлено наявний спайкових процес у місці імплантації хірургічної сітки, а також гнійний або фібринозно - гнійний ексудат у деяких експериментальних тварин в обох групах. Абсолютна кількість р53-позитивних клітин була більшою ($p < 0,05$) порівняно з абсолютною кількістю Ki-67-позитивних клітин. Отримані результати узгоджуються з науковими роботами дослідників, які проводили експериментальне дослідження з різними типами поліпропіленових хірургічних сіток з приводу розвитку спайкового процесу [192, 193].

Отримані у результаті дослідження дані щодо генерації АФК лейкоцитами активації процесів ліпідної пероксидації, розвитку запального процесу та оксидативного стресу, порушення балансу оксидантно - антиоксидантної системи, збільшення інтенсивності апоптозу лейкоцитів сироватки крові дозволяють розробити схеми ланок патогенезу розвитку ускладнень при імплантації хірургічних сіток без покриття та з покриттям на основі танталу та його похідних з метою удосконалення сучасних

підходів у попередженні виникнення патологічних процесів у місці імплантації при герніопластиці. За результатами власних досліджень були створені схеми патогенезу розвитку спайкового процесу та гнійно - септичних ускладнень при імплантації хірургічних сіток (рис. 6.8, 6.9).

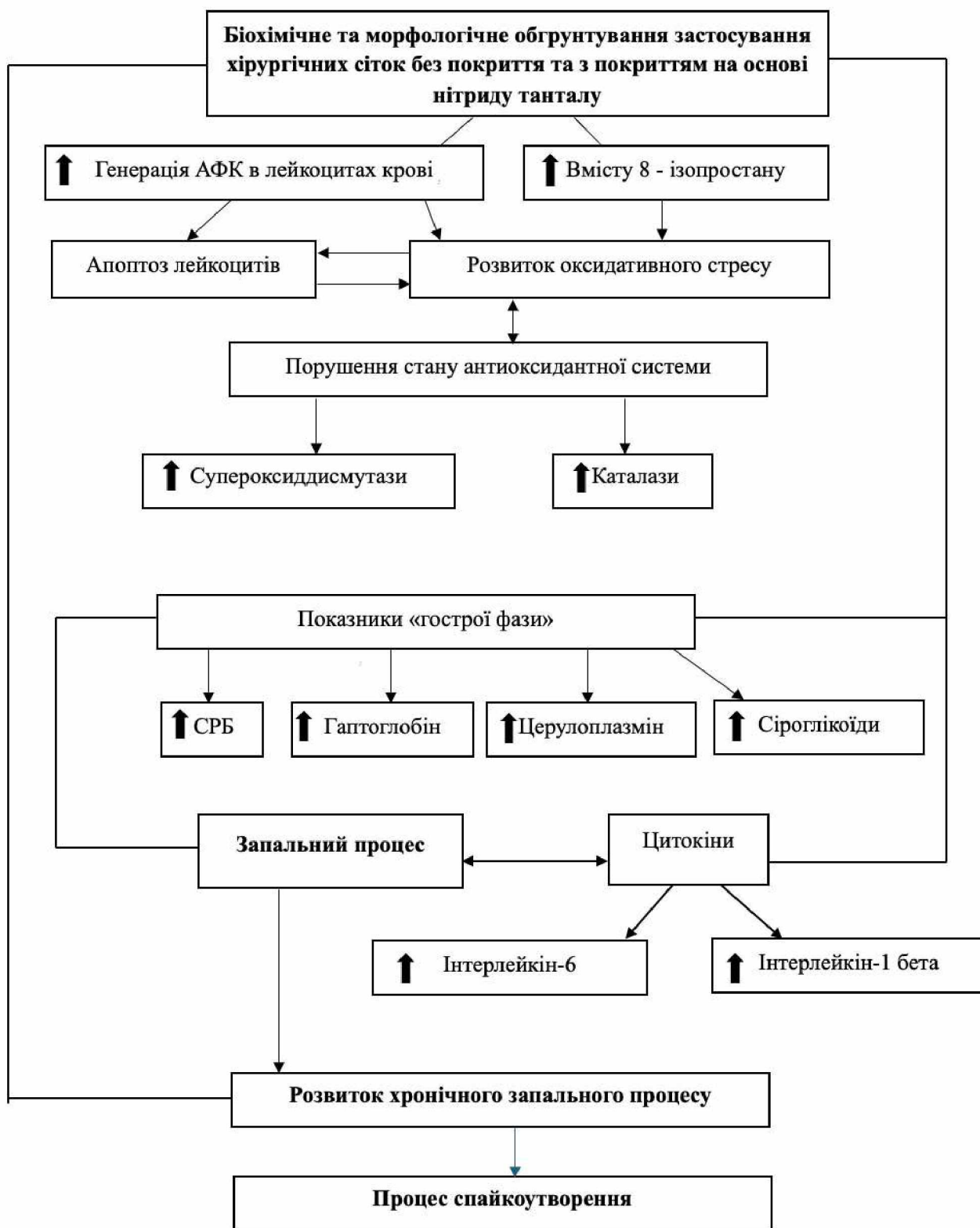


Рисунок 6.8. Схема розвитку хронічного запального процесу та процесу спайкоутворення при імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі нітриду танталу та без покриття.

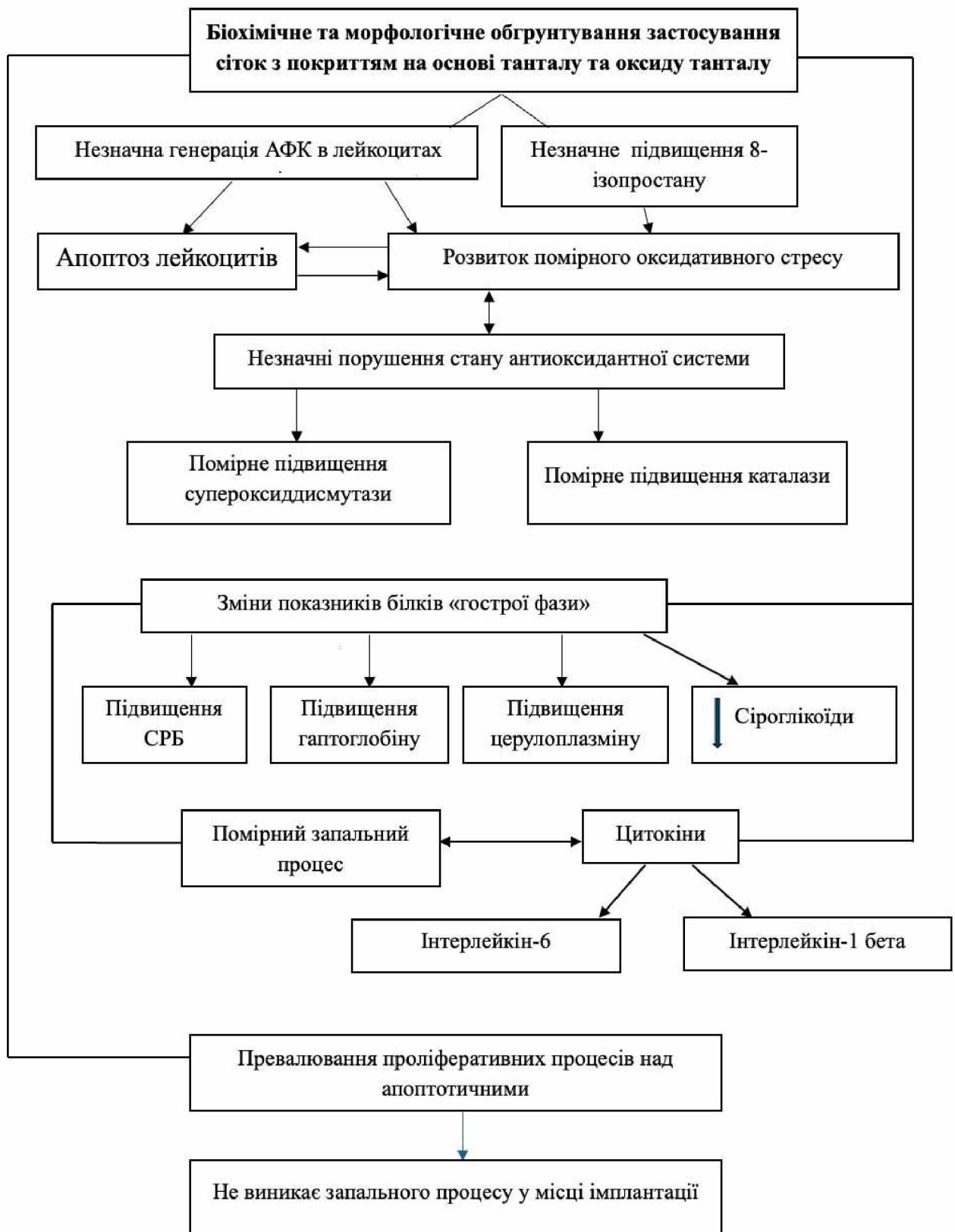


Рисунок 6.9. Схема обґрунтування використання хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та нове вирішення науково-практичного завдання сучасної медицини: біохімічно та морфологічно обґрунтовано можливість застосування поліпропіленових хірургічних сіток із нанесенням покриттів на основі танталу та оксиду танталу за допомогою методу реактивного магнетронного розпилення для попередження виникнення спайкового та гнійно - септичних процесів у місці імплантації поліпропіленових хірургічних сіток при герніопластиці.

1. У щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу та оксиду танталу не спостерігалось статистичних змін у генерації АФК лейкоцитами крові у порівнянні з показниками у щурів контрольних груп. Аналіз життєздатності та видів клітинної смерті лейкоцитів у визначених групах продемонстрував незначне зниження відсотку життєздатних лейкоцитів на тлі невеликого підвищення відсотку пізньоапоптичних та некротичних клітин у порівнянні з показниками контрольних груп. За умов імплантації сіток без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу спостерігалась гіперпродукція АФК лейкоцитами на 129,6 % та 117,8 % ($p < 0,05$) відповідно у порівнянні з показниками у щурів контрольних груп. Визначали статистичне зниження відсотку життєздатних лейкоцитів на 12,9 % та 16,2 % ($p < 0,05$) відповідно на тлі підвищення відсотку ранньоапоптичних (на 5,05 % та 4,45 %, $p < 0,05$), пізньоапоптичних (на 3,6 % та 4,9 %, $p < 0,05$) та некротичних (на 3,8 % та 6,9 %, $p < 0,05$) лейкоцитів відповідно показників у контрольних груп.

2. За умов імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу визначали збільшення вмісту маркеру ліпідної пероксидації, а саме 8-ізопростану, у середньому на 107 % ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками у щурів контрольних груп.

При імплантації хірургічних сіток без покриттям та з покриттям на основі нітриду танталу визначали більш виразне підвищення вмісту 8-ізопростану в крові, а саме 156,9 % та 172,9 % ($p < 0,05$) відповідно у порівнянні із показниками у контрольних тварин. У відповідь на розвиток оксидативного стресу спостерігалось підвищення активності ферментативної ланки антиоксидантної системи. За умов імплантації сіток з покриттям на основі танталу та оксиду танталу: активність СОД 1 збільшувалася на 86,2 % й 97,1 % ($p < 0,05$) відповідно та активність каталази була вище на 70,2 % й 67,6 % ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними тваринами. Активність СОД 1 та каталази в крові даних експериментальних груп практично не відрізнялася від показників у щурів групи 2. У щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу та без покриття активність СОД 1 збільшувалася на 126 % ($p < 0,05$) та каталази на 86,7 % й 92,4 % ($p < 0,05$) у порівнянні з тваринами контрольних груп.

3. Після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу спостерігалось підвищення білків «гострої фази»: СРБ - на 113,3 % та 95,6 %, гаптоглобіну - на 83,8 % та 60,15%, церулоплазміну - на 32,6 % та 29,35 % ($p < 0,05$) відповідно у порівнянні з результатами у контрольних тварин. Вміст сіроглікоїдів був у 2,95 та 1,34 рази нижче у порівнянні з інтактними тваринами, що свідчить про відсутність розвитку тривалого запального процесу у даних групах. У щурів, з імплантацією хірургічних сіток із покриттям на основі нітриду танталу та без покриття ми спостерігали різке підвищення вмісту білків «гострої фази»: СРБ - на 228,8 % та 260,0 %, гаптоглобіну - на 130,0 % та 110,4 %, церулоплазміну - на 50,6 % та 52,65 % ($p < 0,05$) відповідно. Вміст сіроглікоїдів у тварин із імплантацією покриття на основі нітриду танталу був на 9,2 % нижче, а у групи тварин із хірургічною сіткою без покриття був на 24,1 % вище у порівнянні із результатами у контрольних тварин. Отримані дані вказують

нам на довготривалий запальний процес у даних групах експериментальних тварин із залученням сполучної тканини.

4. Вміст прозапальних цитокінів у щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям танталу та оксиду танталу був підвищений ІЛ-1 β - на 13,9 % та 17,9 % ($p < 0,05$) та ІЛ-6 - на 20,6 % та 35,5 % ($p < 0,05$) відповідно до результатів у контрольних тварин. У щурів, яким було імплантовано хірургічні сітки з покриттям на основі нітриду танталу та без покриття ми спостерігали різке підвищення вмісту ІЛ-1 β - на 44,4 % та 70,9 % ($p < 0,05$) та ІЛ-6 - на 68,6 % та 80,2 % ($p < 0,05$) відповідно до отриманих результатів у інтактних тварин, що вказує на наявний запальний процес у місці імплантації.

5. У експериментальних тварин, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки без покриття, та з покриттям на основі нітриду танталу на передній черевній стінці в ділянці проведеного оперативного втручання реєструвалося пригноблення процесів загоєння рани. Визначалися в товщі регенерату, дермі, гіподермі, м'язовій та сполучній тканинах дифузна сильно виражена поліморфна клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного ряду, нейтрофільними лейкоцитами; помірно виражені гемодинамічні порушення; альтеративні зміни у м'язових волокнах м'язового шару. Навкруги хірургічної сітки формувався шар незрілої грануляційної тканини, що характеризувалася превалювання процесів апоптозу над проліферативними процесами. У більшості тварин між сіткою та шаром грануляційної тканини було виявлено гнійний, фібринозно-гнійний ексудат, що виходив на поверхню епідермісу через сформований норичевий хід. У всіх тварин до шару грануляційної тканини щільно прилягали фрагменти брижі кишечника, що свідчило про розвиток спайкового процесу.

6. У щурів, яким було імплантовано поліпропіленові хірургічні сітки з покриттям на основі танталу, оксиду танталу порівняно з випадками

застосування хірургічних сіток без покриття та з покриттям на основі нітриду танталу при морфологічному дослідженні реєструвалося органотипове загоєння рани на передній черевній стінці; в дермі, гіподермі, м'язовій та сполучній тканинах відмічалися помірна вогнищеводифузна клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного дифферону, та вогнищеві склеротичні зміни. Грануляційна тканина, що формувалася навкруги сітки та вросла в її отвори, була зрілою; мала більшу ($p < 0,05$) товщину; більшу ($p < 0,05$) кількість судин, що покращує трофіку даної тканини, сприяє швидкому її дозріванню і перетворенню у сполучну тканину; меншу ($p < 0,05$) кількість p53-позитивних клітин та більшу кількість Ki-67-позитивних клітин з превалюванням останніх; не прилягала до брижі кишечника, що свідчило про відсутність спайкового процесу.

7. Біохімічно та морфологічно обґрунтовано застосування поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та оксиду танталу при герніопластиці шляхом використання, по-перше, біохімічних маркерів (СРБ, 8-ізопростану, прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6) та сіроглікоїдів); по-друге, оцінки при морфологічному дослідженні якості загоєння рани на передній черевній стінці; наявності та ступеня вираженості загальнопатологічних процесів (гемодинамічних, запальних, склеротичних та альтеративних змін) у дермі, гіподермі, шарах м'язової та сполучної тканин; процесів ангиогенезу, апоптозу та проліферації в грануляційній тканині, що обростає хірургічну сітку; процесів спайкоутворення.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендується використання поліпропіленових хірургічних сіток із покриттями на основі танталу та оксиду танталу у герніопластиці для попередження виникнення спайкових та гнійно – септичних процесів у місці імплантації.

2. Рекомендується визначення таких біохімічних маркерів як 8-ізопростан, С – реактивний білок, прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β та ІЛ-6) та сіроглікоїдів для попередження розвитку спайкових та гнійно – септичних процесів при герніопластиці.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Miserez M, Peeters E, Aufenacker T et al (2014) Update with level 1 studies of the European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. *Hernia* 18(2):151–163. <https://doi.org/10.1007/s10029-014-1236-6>
2. Perez, A. J., & Campbell, S. (2022). Inguinal Hernia Repair in Older Persons. *Journal of the American Medical Directors Association*, 23(4), 563–567. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2022.02.008>
3. Schroeder, A. D., Tubre, D. J., & Fitzgibbons, R. J., Jr (2019). Watchful Waiting for Inguinal Hernia. *Advances in surgery*, 53, 293–303. <https://doi.org/10.1016/j.yasu.2019.04.014>
4. Bendavid, R., Mainprize, M., & Iakovlev, V. (2019). Pure tissue repairs: a timely and critical revival. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 23(3), 493–502. <https://doi.org/10.1007/s10029-019-01972-2>
5. Scrimgeour, D. S. G., Allan, M., Knight, S. R., East, B., Blackwell, S., Dames, N., Laidlaw, L., Light, D., Horgan, L., Smart, N. J., de Beaux, A., Wilson, M. S. J., & Scottish Surgical Research Group and the British Hernia Society (2022). A modified Delphi process to establish research priorities in hernia surgery. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 26(3), 751–759. <https://doi.org/10.1007/s10029-021-02519-0>
6. Simons MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M et al (2009) European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. *Hernia* 13:343–403. <https://doi.org/10.1007/s10029-009-0529-7>
7. Gong W, Li J. Operation versus watchful waiting in asymptomatic or minimally symptomatic inguinal hernias: the meta-analysis results of randomized controlled trials. *Int J Surg* 2018;52:120–5.
8. Hollinsky C, Kolbe T, Walter I et al (2010) Tensile strength and adhesion formation of mesh fixation systems used in laparoscopic incisional

hernia repair. *Surg Endosc Other Interv Tech* 24(6):1318–1324.
<https://doi.org/10.1007/s00464-009-0767-x>

9. Jin, C., Shen, Y., Chen, J., (2020). Laparoscopic evaluation and management of 47 patients with late-onset mesh infection after inguinal hernioplasty. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*.
<https://doi.org/10.1007/s10029-020-02141-6>

10. Cui J, Zhang S, Huang M, Mu X, Hei J, Yau V, He H. Micro-nano porous structured tantalum-coated dental implants promote osteogenic activity in vitro and enhance osseointegration in vivo. *J Biomed Mater Res A*. 2023 Sep;111(9):1358-1371. doi: 10.1002/jbm.a.37538

11. Wang, X., Ning, B., & Pei, X. (2021). Tantalum and its derivatives in orthopedic and dental implants: Osteogenesis and antibacterial properties. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 208, 112055.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112055>

12. Wauthle, R., van der Stok, J., Amin Yavari, S., Van Humbeeck, J., Kruth, J. P., Zadpoor, A. A., Weinans, H., Mulier, M., & Schrooten, J. (2015). Additively manufactured porous tantalum implants. *Acta biomaterialia*, 14, 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.12.003>

13. Qian H, Lei T, Lei P, Hu Y. Additively Manufactured Tantalum Implants for Repairing Bone Defects: A Systematic Review. *Tissue Eng Part B Rev*. 2021 Apr;27(2):166-180. doi: 10.1089/ten.TEB.2020.0134.

14. Ying J, Yu H, Cheng L, Li J, Wu B, Song L, Yi P, Wang H, Liu L, Zhao D. Research progress and clinical translation of three-dimensional printed porous tantalum in orthopaedics. *Biomater Transl*. 2023 Sep 28;4(3):166-179. doi: 10.12336/biomatertransl.2023.03.005

15. Hanc, M., Fokter, S. K., Vogrin, M., Molicnik, A., & Recnik, G. (2016). Porous tantalum in spinal surgery: an overview. *European journal of orthopaedic surgery & traumatology : orthopedie traumatologie*, 26(1), 1–7.
<https://doi.org/10.1007/s00590-015-1654-x>

16. Bittner JG. (2016). Incarcerated/strangulated hernia: open or laparoscopic? *Adv Surg.* 50(1):67–78.
17. Simons MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M et al (2009) European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. *Hernia* 13:343–403. <https://doi.org/10.1007/s10029-009-0529-7>
18. Poelman MM, van den Heuvel B, Deelder JD et al (2013) EAES Consensus Development Conference on endoscopic repair of groin hernias. *Surg Endosc* 27(10):3505–3519. <https://doi.org/10.1007/s00464-013-3001-9>
19. Miserez M, Peeters E, Aufenacker T et al (2014) Update with level 1 studies of the European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. *Hernia* 18(2):151–163. <https://doi.org/10.1007/s10029-014-1236-6>
20. Bittner, R., Bain, K., Bansal, V. K., Berrevoet, F., et al (2019). Update of Guidelines for laparoscopic treatment of ventral and incisional abdominal wall hernias (International Endohernia Society (IEHS))-Part A. *Surgical endoscopy*, 33(10), 3069–3139. <https://doi.org/10.1007/s00464-019-06907-7>
21. Poulou BK, Shelton J, Phillips S, Moore D, Nealon W, Penson D, Beck W, Holzman MD (2012) Epidemiology and cost of ventral hernia repair: making the case for hernia research. *Hernia* 16:179–183. <https://doi.org/10.1007/s10029-011-0879-9>
22. Bulyk, I., Shkarban, V., Vasyliuk, S., Osadets, V., Bitska, I., & Dmytruk, O. (2023). The history of inguinal hernia surgery. *Historia chirurgie inguinální kýly. Rozhledy v chirurgii : mesicnik Ceskoslovenske chirurgicke spolecnosti*, 102(4), 149–153. <https://doi.org/10.33699/PIS.2023.102.4.149-153>
23. Pande, T., & Naidu, C. S. (2020). Mesh infection in cases of polypropylene mesh hernioplasty. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 24(4), 849–856. <https://doi.org/10.1007/s10029-020-02142-5>
24. Bay-Nielsen M, Kehlet H, Strand L et al (2001) Quality assessment of 26,304 herniorrhaphies in Denmark: a prospective nationwide study. *Lancet* 358(9288):1124–1128. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06251-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06251-1)

25. Bittner R, Arregui ME, Bisgaard T et al (2011) Guidelines for laparoscopic (TAPP) and endoscopic (TEP) treatment of inguinal hernia [International Endohernia Society (IEHS)]. *Surg Endosc* 25(9):2773–2843. <https://doi.org/10.1007/s00464-011-1799-6>
26. HerniaSurge Group (2018). International guidelines for groin hernia management. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 22(1), 1–165. <https://doi.org/10.1007/s10029-017-1668-x>
27. Decker, E., Currie, A., & Baig, M. K. (2019). Prolene hernia system versus Lichtenstein repair for inguinal hernia: a meta-analysis. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 23(3), 541–546. <https://doi.org/10.1007/s10029-019-01897-w>
28. Deerenberg, E. B., Henriksen, N. A., Antoniou, G. A., et al (2022). Updated guideline for closure of abdominal wall incisions from the European and American Hernia Societies. *The British journal of surgery*, 109(12), 1239–1250. <https://doi.org/10.1093/bjs/znac302>
29. Kahramanca S, Kaya O, Ozgehan G, Guzel H, Azili C, Gokce E, Kucukpinar T, Kulacoglu H. Are fibrinogen and complete blood count parameters predictive in incarcerated abdominal hernia repair? *Int Surg*. 2014 Nov-Dec;99(6):723-8. doi: 10.9738/INTSURG-D-13-00107.1
30. Zhou, Y., Ge, Y., Liu, J., Shen, W., Gu, H., & Cheng, G. (2023). Modified Frailty Index and Albumin-Fibrinogen Ratio Predicts Postoperative Seroma After Laparoscopic TAPP. *Clinical interventions in aging*, 18, 1397–1403. <https://doi.org/10.2147/CIA.S418338>
31. Hu H, Sun H, Jiang Z, Wang S, Liu C, Zou M, Ju R, Feng Z, Liu W, Wang T, Han B. Study on repair of abdominal wall defect rats with hernia mesh coated with chitosan-based photosensitive hydrogel. *Carbohydr Polym*. 2022 Sep 1;291:119577. doi: 10.1016/j.carbpol.2022.119577
32. Pierce, L. M., Asarias, J. R., Nguyen, P. T., Mings, J. R., & Gehrich, A. P. (2011). Inflammatory cytokine and matrix metalloproteinase expression induced by collagen-coated and uncoated polypropylene meshes in a rat

model. *American journal of obstetrics and gynecology*, 205(1), 82.e1–82.e829. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2011.02.045>

33. Asarias JR, Nguyen PT, Mings JR, Gehrich AP, Pierce LM. Influence of mesh materials on the expression of mediators involved in wound healing. *J Invest Surg*. 2011;24(2):87-98. doi: 10.3109/08941939.2010.548904

34. Liang MK, Holihan JL, Itani K, Alawadi ZM, Gonzalez JR, Askenasy EP, Ballecer C, Chong HS, Goldblatt MI, Greenberg JA, Harvin JA, Keith JN, Martindale RG, Orenstein S, Richmond B, Roth JS, Szotek P, Towfigh S, Tsuda S, Vaziri K, Berger DH. Ventral Hernia Management: Expert Consensus Guided by Systematic Review. *Ann Surg*. 2017 Jan;265(1):80-89. doi: 10.1097/SLA.0000000000001701

35. Khan, R. M. A., Bughio, M., Ali, B., Hajibandeh, S., & Hajibandeh, S. (2018). Absorbable versus non-absorbable tacks for mesh fixation in laparoscopic ventral hernia repair: A systematic review and meta-analysis. *International journal of surgery (London, England)*, 53, 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.ijso.2018.03.042>

36. Todros, S., Pavan, P. G., Pachera, P., & Natali, A. N. (2017). Synthetic surgical meshes used in abdominal wall surgery: Part II-Biomechanical aspects. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 105(4), 892–903. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33584>

37. Nahabedian MY, Sosin M, Bhanot P. A Current Review of Biologic Meshes in Abdominal Wall Reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2018 Sep;142(3 Suppl):74S-81S. doi: 10.1097/PRS.0000000000004866

38. van 't Riet, M., de Vos van Steenwijk, P. J., Bonthuis, F., Marquet, R. L., Steyerberg, E. W., Jeekel, J., & Bonjer, H. J. (2003). Prevention of adhesion to prosthetic mesh: comparison of different barriers using an incisional hernia model. *Annals of surgery*, 237(1), 123–128. <https://doi.org/10.1097/00000658-200301000-00017>

39. Gil, D., Rex, J., Cobb, W., Reukov, V., & Vertegel, A. (2018). Anti-inflammatory coatings of hernia repair meshes: A pilot study. *Journal of*

biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials, 106(2), 589–597.
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.33834>

40. Cobb W. S. (2018). A Current Review of Synthetic Meshes in Abdominal Wall Reconstruction. *Plastic and reconstructive surgery*, 142(3 Suppl), 64S–71S. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000004857>

41. Matthews, B. D. Ricker, A. B., Marturano, M. N. (2023). What Mesh Should be Used in Hernia Repair?. *Advances in surgery*, 57(1), 225–231. <https://doi.org/10.1016/j.yasu.2023.04.004>

42. Melman, L., Jenkins, E. D., Hamilton, N. A., Bender, L. C., Brodt, M. D., Deeken, C. R., Greco, S. C., Frisella, M. M., & Matthews, B. D. (2011). Histologic and biomechanical evaluation of a novel macroporous polytetrafluoroethylene knit mesh compared to lightweight and heavyweight polypropylene mesh in a porcine model of ventral incisional hernia repair. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 15(4), 423–431. <https://doi.org/10.1007/s10029-011-0787-z>

43. Laschke MW, Häufel JM, Scheuer C, Menger MD. Angiogenic and inflammatory host response to surgical meshes of different mesh architecture and polymer composition. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009 Nov;91(2):497-507. doi: 10.1002/jbm.b.31423

44. Gaertner WB, Hagerman GF, Felemovicius I, Bonsack ME, Delaney JP. Two experimental models for generating abdominal adhesions. *J Surg Res*. 2008 May 15;146(2):241-5. doi: 10.1016/j.jss.2007.08.012

45. Delaney JP, Gaertner WB. Evaluation of biologic meshes in a porcine model of ventral incisional hernia repair. *J Am Coll Surg*. 2011 Nov;213(5):691; author reply 692. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2011.08.002

46. van't Riet, M., de Vos van Steenwijk, P. J., Bonjer, H. J., Steyerberg, E. W., & Jeekel, J. (2007). Mesh repair for postoperative wound dehiscence in the presence of infection: is absorbable mesh safer than non-absorbable mesh?. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 11(5), 409–413. <https://doi.org/10.1007/s10029-007-0240-5>

47. van't Riet, M., Burger, J. W., Bonthuis, F., Jeekel, J., & Bonjer, H. J. (2004). Prevention of adhesion formation to polypropylene mesh by collagen coating: a randomized controlled study in a rat model of ventral hernia repair. *Surgical endoscopy*, 18(4), 681–685. <https://doi.org/10.1007/s00464-003-9054-4>
48. Altuntas YE, Kement M, et al (2008). The effectiveness of hyaluron-carboxymethylcellulose membrane in different severity of adhesions observed at the time of relaparotomies: An experimental study on mice. *Dis Colon Rectum* ;51:1562–1565
49. Prieto-Dí'az-Cha'vez E, Medina-Chavez JL, et al. (2008). Reduction of peritoneal adhesion to polypropylene mesh with the application of fibrin glue. *Acta Chir Belg.* 108:433–437.
50. Lu, X., Harman, M., Todd Heniford, B., Augenstein, V., McIver, B., & Bridges, W. (2022). Analyzing material changes consistent with degradation of explanted polymeric hernia mesh related to clinical characteristics. *Surgical endoscopy*, 36(7), 5121–5135. <https://doi.org/10.1007/s00464-021-08882-4>
51. Wang X, Wei H, Ou Y, Li Z, Luo F, Tan H, Li J. Polypropylene composite mesh modified by polyurethane gel with ROS scavenging and anti-inflammatory effects for pelvic floor repair. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2023 Oct;230:113518. doi: 10.1016/j.colsurfb.2023.113518
52. Clancy, C., Jordan, P., & Ridgway, P. F. (2019). Polypropylene mesh and systemic side effects in inguinal hernia repair: current evidence. *Irish journal of medical science*, 188(4), 1349–1356. <https://doi.org/10.1007/s11845-019-02008-5>
53. Pochhammer, J., Scholtes, B., Keuler, J., Müssle, B., Welsch, T., & Schäffer, M. (2020). Serum C-reactive protein level after ventral hernia repair with mesh reinforcement can predict infectious complications: a retrospective cohort study. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 24(1), 41–48. <https://doi.org/10.1007/s10029-018-1844-7>

54. Hu M, Korschelt K, Daniel P, Landfester K, Tremel W, Bannwarth MB. Fibrous Nanozyme Dressings with Catalase-Like Activity for H₂O₂ Reduction To Promote Wound Healing. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017 Nov 1;9(43):38024-38031. doi: 10.1021/acsami.7b12212
55. Tanasescu, C., Moisin, A., Mihetiu, A., Serban, D., Costache, A., & Bratu, D. G. (2021). The use of polypropylene mesh in inguinal hernia surgery: A retrospective study. *Experimental and therapeutic medicine*, 22(4), 1193. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10627>
56. Al-Zyoud W, Haddadin D, Hasan SA, Jaradat H, Kanoun O. Biocompatibility Testing for Implants: A Novel Tool for Selection and Characterization. *Materials (Basel)*. 2023 Oct 26;16(21):6881. doi: 10.3390/ma16216881
57. Konerding, M. A., Chantereau, P., Delventhal, V., Holste, J. L., & Ackermann, M. (2012). Biomechanical and histological evaluation of abdominal wall compliance with intraperitoneal onlay mesh implants in rabbits: a comparison of six different state-of-the-art meshes. *Medical engineering & physics*, 34(7), 806–816.
58. Keating, J. H., Melidone, R., & Garcia-Polite, F. (2019). Preclinical Evaluation of Mesh Implants: The Pathologist's Perspective. *Toxicologic pathology*, 47(3), 379–389. <https://doi.org/10.1177/0192623318811592>
59. Baidoo N, Sanger GJ, Belai A. Histochemical and biochemical analysis of collagen content in formalin-fixed, paraffin embedded colonic samples. *MethodsX*. 2023 Oct 8;11:102416. doi: 10.1016/j.mex.2023.102416
60. Liu, J., Xu, M. Y., Wu, J., Zhang, H., Yang, L., Lun, D. X., Hu, Y. C., & Liu, B. (2021). Picrosirius-Polarization Method for Collagen Fiber Detection in Tendons: A Mini-Review. *Orthopaedic surgery*, 13(3), 701–707. <https://doi.org/10.1111/os.12627>
61. Ulrich, D., Edwards, S. L., White, J. F., Supit, T., Ramshaw, J. A., Lo, C., Rosamilia, A., Werkmeister, J. A., & Gargett, C. E. (2012). A preclinical evaluation of alternative synthetic biomaterials for fascial defect repair using a

rat abdominal hernia model. *PLoS one*, 7(11), e50044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050044>

62. Lindner, C., Prohl, A., Abels, M., Löffler, T., Batinic, M., Jung, O., & Barbeck, M. (2020). Specialized Histological and Histomorphometrical Analytical Methods for Biocompatibility Testing of Biomaterials for Maxillofacial Surgery in (Pre-) Clinical Studies. *In vivo* (Athens, Greece), 34(6), 3137–3152. <https://doi.org/10.21873/invivo.12148>

63. Kyriakides, T. R., Kim, H. J., Zheng, C., Harkins, L., Tao, W., & Deschenes, E. (2022). Foreign body response to synthetic polymer biomaterials and the role of adaptive immunity. *Biomedical materials* (Bristol, England), 17(2), 10.1088/1748-605X/ac5574. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ac5574>

64. Heymann, F., von Trotha, K. T., Preisinger, C., Lynen-Jansen, P., Roeth, A. A., Geiger, M., Geisler, L. J., Frank, A. K., Conze, J., Luedde, T., Trautwein, C., Binnebösel, M., Neumann, U. P., & Tacke, F. (2019). Polypropylene mesh implantation for hernia repair causes myeloid cell-driven persistent inflammation. *JCI insight*, 4(2), e123862.

65. Onuki, Y., Bhardwaj, U., Papadimitrakopoulos, F., & Burgess, D. J. (2008). A review of the biocompatibility of implantable devices: current challenges to overcome foreign body response. *Journal of diabetes science and technology*, 2(6), 1003–1015. <https://doi.org/10.1177/193229680800200610>

66. Moretti, L., Stalfort, J., Barker, T. H., & Abebayehu, D. (2022). The interplay of fibroblasts, the extracellular matrix, and inflammation in scar formation. *The Journal of biological chemistry*, 298(2), 101530. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101530>

67. Ribeiro, W. G., Rodrigues, D. V. S., Atta, F. F. M., Ramos, I. S. F., Frazão, F. N. S., Torres, O. J. M., & Pitombo, M. B. (2019). Comparative study of peritoneal adhesions after intraperitoneal implantation in rats of meshes of polypropylene versus polypropylene/polyglycolic versus polyester/porcine

collagen. *Acta chirurgica brasileira*, 34(6), e201900603.
<https://doi.org/10.1590/s0102-865020190060000003>

68. Żywicka, B., Struszczyk, M. H., Paluch, D., Kostanek, K., Krucińska, I., Kowalski, K., Kopias, K., Rybak, Z., Szymonowicz, M., Gutowska, A., & Kubiak, P. (2022). Design of New Concept of Knitted Hernia Implant. *Materials (Basel, Switzerland)*, 15(7), 2671. <https://doi.org/10.3390/ma15072671>

69. Kelly, M., Macdougall, K., Olabisi, O., & McGuire, N. (2017). In vivo response to polypropylene following implantation in animal models: a review of biocompatibility. *International urogynecology journal*, 28(2), 171–180. <https://doi.org/10.1007/s00192-016-3029-1>

70. Nuss, K. M., & von Rechenberg, B. (2008). Biocompatibility issues with modern implants in bone - a review for clinical orthopedics. *The open orthopaedics journal*, 2, 66–78. <https://doi.org/10.2174/1874325000802010066>

71. Keating, J. H., Melidone, R., & Garcia-Polite, F. (2019). Preclinical Evaluation of Mesh Implants: The Pathologist's Perspective. *Toxicologic pathology*, 47(3), 379–389. <https://doi.org/10.1177/0192623318811592>

72. Liu, M., Silva-Sanchez, A., Randall, T. D., & Meza-Perez, S. (2021). Specialized immune responses in the peritoneal cavity and omentum. *Journal of leukocyte biology*, 109(4), 717–729. <https://doi.org/10.1002/JLB.5MIR0720-271RR>

73. Sürgit Ö, Çavuşoğlu NT, Kılıç MÖ, Ünal Y, Koşar PN, İçen D. Use of fibrin glue in preventing pseudorecurrence after laparoscopic total extraperitoneal repair of large indirect inguinal hernia. *Ann Surg Treat Res*. 2016 Sep;91(3):127-32. doi: 10.4174/ast.2016.91.3.127

74. Chan, B. P., & Leong, K. W. (2008). Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European spine journal : official publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*, 17 Suppl 4(Suppl 4), 467–479. <https://doi.org/10.1007/s00586-008-0745-3>

75. Trandafir A. F., Popa D. E., Vasile D. (2017). Prostheses used in laparoscopic inguinal hernia repair: Biocompatibility, postoperative complications and quality of life—Review of the literature. *Maedica* 12, 202–07.
76. Orenstein, S. B., Saberski, E. R., Kreutzer, D. L., & Novitsky, Y. W. (2012). Comparative analysis of histopathologic effects of synthetic meshes based on material, weight, and pore size in mice. *The Journal of surgical research*, 176(2), 423–429. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.09.031>
77. Klinge, U., & Klosterhalfen, B. (2018). Mesh implants for hernia repair: an update. *Expert review of medical devices*, 15(10), 735–746. <https://doi.org/10.1080/17434440.2018.1529565>
78. Panaro, F., Matos-Azevedo, A. M., Fatas, J. A., Marin, J., Navarro, F., & Zaragoza-Fernandez, C. (2015). Endoscopic and histological evaluations of a newly designed inguinal hernia mesh implant: Experimental studies on porcine animal model and human cadaver. *Annals of medicine and surgery* (2012), 4(2), 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2015.04.007>
79. Wang, X., Xu, S., Zhou, S., Xu, W., Leary, M., Choong, P., Qian, M., Brandt, M., & Xie, Y. M. (2016). Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants: A review. *Biomaterials*, 83,127–141. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.012>
80. Wauthle, R., van der Stok, J., Amin Yavari, S., Van Humbeeck, J., Kruth, J. P., Zadpoor, A. A., Weinans, H., Mulier, M., & Schrooten, J. (2015). Additively manufactured porous tantalum implants. *Acta biomaterialia*, 14, 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.12.003>
81. Liu, Y., Bao, C., Wismeijer, D., & Wu, G. (2015). The physicochemical/biological properties of porous tantalum and the potential surface modification techniques to improve its clinical application in dental implantology. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 49, 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.01.007>

82. Maccauro, G., Iommetti, P. R., Muratori, F., Raffaelli, L., Manicone, P. F., & Fabbriciani, C. (2009). An overview about biomedical applications of micron and nano size tantalum. *Recent patents on biotechnology*, 3(3), 157–165. <https://doi.org/10.2174/187220809789389153>
83. Balla, V. K., Bodhak, S., Bose, S., & Bandyopadhyay, A. (2010). Porous tantalum structures for bone implants: fabrication, mechanical and in vitro biological properties. *Acta biomaterialia*, 6(8), 3349–3359. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.01.046>
84. Mohandas, G., Oskolkov, N., McMahan, M. T., Walczak, P., & Janowski, M. (2014). Porous tantalum and tantalum oxide nanoparticles for regenerative medicine. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 74(2), 188–196. <https://doi.org/10.55782/ane-2014-1984>
85. Wang X, Zhou K, Li Y, Xie H, Wang B. Preparation, modification, and clinical application of porous tantalum scaffolds. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023 Apr 4;11:1127939. doi: 10.3389/fbioe.2023.1127939
86. Huang S, Sing SL, de Looze G, Wilson R, Yeong WY. Laser powder bed fusion of titanium-tantalum alloys: Compositions and designs for biomedical applications. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020 Aug;108:103775. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.103775
87. Tsung-Yuan Kuo, Wei-Han Chin, Chi-Sheng Chien, Yueh-Hung Hsieh. (2019). Mechanical and biological properties of graded porous tantalum coatings deposited on titanium alloy implants by vacuum plasma spraying, *Surface and Coatings Technology*, Volume 372, 399-409, ISSN 0257-8972. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.05.003>.
88. Ding Z, Wang Y, Zhou Q, et al. Microstructure, Wettability, Corrosion Resistance and Antibacterial Property of Cu-MTa₂O₅ Multilayer Composite Coatings with Different Cu Incorporation Contents. *Biomolecules*. 2019;10(1):68. Published 2019 Dec 31. doi:10.3390/biom10010068

89. M. Sopata, M. Sadej, J. Jakubowicz, (2019). High temperature resistance of novel tantalum-based nanocrystalline refractory compounds, *J. Alloys Compd.* 788; 476–484.
90. Wigfield, C., Robertson, J., Gill, S., & Nelson, R. (2003). Clinical experience with porous tantalum cervical interbody implants in a prospective randomized controlled trial. *British journal of neurosurgery*, 17(5), 418–425. <https://doi.org/10.1080/02688690310001611206>
91. Kang, C., Wang, Y., Li, L., Li, Z., Zhou, Q., & Pan, X. (2021). Assessment of tantalum nanoparticle-induced MC3T3-E1 proliferation and underlying mechanisms. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 32(11), 133. <https://doi.org/10.1007/s10856-021-06606-7>
92. Zhu, Y., Gu, Y., Qiao, S., Zhou, L., Shi, J., & Lai, H. (2017). Bacterial and mammalian cells adhesion to tantalum-decorated micro-/nano-structured titanium. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 105(3), 871–878. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35953>
93. Bandyopadhyay, A., Mitra, I., Shivaram, A., Dasgupta, N., & Bose, S. (2019). Direct comparison of additively manufactured porous titanium and tantalum implants towards in vivo osseointegration. *Additive manufacturing*, 28, 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2019.04.025>
94. Levine, B. R., Sporer, S., Poggie, R. A., Della Valle, C. J., & Jacobs, J. J. (2006). Experimental and clinical performance of porous tantalum in orthopedic surgery. *Biomaterials*, 27(27), 4671–4681.
95. van der Valk, C. M., Barrère, F., Dalmeijer, R. A., Meijer, G., van Blitterswijk, C. A., de Groot, K., & Layrolle, P. (2003). Osteogenicity of octacalcium phosphate coatings applied on porous metal implants. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 66(4), 779–788.
96. van der Valk, C. M., Barrère, F., Meijer, G., Dalmeijer, R. A., de Groot, K., & Layrolle, P. (2003). Osteointegration of biomimetic apatite coating applied onto dense and porous metal implants in femurs of goats. *Journal of*

biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials, 67(1), 655–665.
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.10057>

97. Wei, X., Zhao, D., Wang, B., Wang, W., Kang, K., Xie, H., Liu, B., Zhang, X., Zhang, J., & Yang, Z. (2016). Tantalum coating of porous carbon scaffold supplemented with autologous bone marrow stromal stem cells for bone regeneration in vitro and in vivo. *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.), 241(6), 592–602.

98. Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 13, 1137947. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>

99. Sauer, K., Stoodley, P., Goeres, D. M., Hall-Stoodley, L., Burmølle, M., Stewart, P. S., & Bjarnsholt, T. (2022). The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature reviews. Microbiology*, 20(10), 608–620. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00767-0>

100. Marzaman, A. N. F., Roska, T. P., Sartini, S., Utami, R. N., Sulistiawati, S., Enggi, C. K., Manggau, M. A., Rahman, L., Shastri, V. P., & Permana, A. D. (2023). Recent Advances in Pharmaceutical Approaches of Antimicrobial Agents for Selective Delivery in Various Administration Routes. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 12(5), 822.

101. Zhang, Y., Zheng, Y., Li, Y., Wang, L., Bai, Y., Zhao, Q., Xiong, X., Cheng, Y., Tang, Z., Deng, Y., & Wei, S. (2015). Tantalum Nitride-Decorated Titanium with Enhanced Resistance to Microbiologically Induced Corrosion and Mechanical Property for Dental Application. *PloS one*, 10(6), e0130774. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130774>

102. Chen, X., Bi, Y., Huang, M., Cao, H., & Qin, H. (2022). Why Is Tantalum Less Susceptible to Bacterial Infection?. *Journal of functional biomaterials*, 13(4), 264. <https://doi.org/10.3390/jfb13040264>

103. Wang, X., Ning, B., & Pei, X. (2021). Tantalum and its derivatives in orthopedic and dental implants: Osteogenesis and antibacterial

properties. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 208, 112055. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112055>

104. Alhussein, A., Achache, S., Deturche, R., Sanchette, F., Pulgarin, C., Kiwi, J., & Rtimi, S. (2017). Beneficial effect of Cu on Ti-Nb-Ta-Zr sputtered uniform/adhesive gum films accelerating bacterial inactivation under indoor visible light. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 152, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.01.020>

105. Cui, J., Zhao, L., Zhu, W., Wang, B., Zhao, C., Fang, L., & Ren, F. (2017). Antibacterial activity, corrosion resistance and wear behavior of spark plasma sintered Ta-5Cu alloy for biomedical applications. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 74, 315–323.

106. Xu, L., Wang, Y. Y., Huang, J., Chen, C. Y., Wang, Z. X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), 8996–9031. <https://doi.org/10.7150/thno.45413>

107. Wang, S. & Zhu, W. & Yu, Peng & Wang, X. & He, T. & Tan, Guoxin & Ning, Chenhe. (2015). Antibacterial nanostructured copper coatings deposited on tantalum by magnetron sputtering. *Materials Technology*. 30. B120-B125. 10.1179/1753555714Y.0000000188

108. Huang, Heng Li & Tsai, Ming-Tzu & Lin, Yi-Jou & Chang, Yin-Yu. (2019). Antibacterial and biological characteristics of tantalum oxide coated titanium pretreated by plasma electrolytic oxidation. *Thin Solid Films*. 688. 10.1016/j.tsf.2019.04.043.

109. Huang, Heng Li & Chang, Yin-Yu & Lai, Meng-Cheng & Lin, Cai-Rong & Lai, Chih-Ho & Shieh, Tzong-Ming. (2010). Antibacterial TaN-Ag coating on titanium dental implants. *Surface and Coatings Technology*. 205. 1636-1641. 10.1016/j.surfcoat.2010.07.096.

110. Chen, X., Zhou, J., Qian, Y., & Zhao, L. (2023). Antibacterial coatings on orthopedic implants. *Materials today. Bio*, 19, 100586. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100586>

111. Rodríguez-Contreras, A., Guillem-Martí, J., López, O., Manero, J. M., & Ruperez, E. (2019). Antimicrobial PHAs coatings for solid and porous tantalum implants. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 182, 110317. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.06.047>
112. McKinnon K. M. (2018). Flow Cytometry: An Overview. *Current protocols in immunology*, 120, 5.1.1–5.1.11. <https://doi.org/10.1002/cpim.40>
113. Montante, S., & Brinkman, R. R. (2019). Flow cytometry data analysis: Recent tools and algorithms. *International journal of laboratory hematology*, 41 Suppl 1, 56–62. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13016>
114. Maciorowski, Z., Chattopadhyay, P. K., & Jain, P. (2017). Basic Multicolor Flow Cytometry. *Current protocols in immunology*, 117, 5.4.1–5.4.38. <https://doi.org/10.1002/cpim.26>
115. McFarlin, B. K., & Bowman, E. M. (2018). Advanced flow cytometry techniques for clinical detection. *Methods (San Diego, Calif.)*, 134-135, 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2018.01.016>
116. Jahan-Tigh, R. R., Ryan, C., Obermoser, G., & Schwarzenberger, K. (2012). Flow cytometry. *The Journal of investigative dermatology*, 132(10), 1–6. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.282>
117. Jones D. P. (2008). Radical-free biology of oxidative stress. *American journal of physiology. Cell physiology*, 295(4), C849–C868. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00283.2008>
118. Cadenas, E., & Davies, K. J. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free radical biology & medicine*, 29(3-4), 222–230. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(00\)00317-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(00)00317-8)
119. Aicardo, A., Mastrogiovanni, M., Cassina, A., & Radi, R. (2018). Propagation of free-radical reactions in concentrated protein solutions. *Free radical research*, 52(2), 159–170.
120. Herb, M., & Schramm, M. (2021). Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(2), 313. <https://doi.org/10.3390/antiox10020313>

121. Yang, B., Chen, Y., & Shi, J. (2019). Reactive Oxygen Species (ROS)-Based Nanomedicine. *Chemical reviews*, 119(8), 4881–4985. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00626>
122. Nantapong, N., Murata, R., Trakulnaleamsai, S., Kataoka, N., Yakushi, T., & Matsushita, K. (2019). The effect of reactive oxygen species (ROS) and ROS-scavenging enzymes, superoxide dismutase and catalase, on the thermotolerant ability of *Corynebacterium glutamicum*. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(13), 5355–5366.
123. Zheng, K., Ren, D., Wang, Y. J., Lilyestrom, W., Scherer, T., Hong, J. K. Y., & Ji, J. A. (2021). Monoclonal Antibody Aggregation Associated with Free Radical Induced Oxidation. *International journal of molecular sciences*, 22(8), 3952. <https://doi.org/10.3390/ijms22083952>
124. Suh, L. Y. K., Babu, D., Tonoyan, L., Reiz, B., Whittal, R., Tabatabaei-Dakhili, S. A., Morgan, A. G., Velázquez-Martínez, C. A., & Siraki, A. G. (2019). Myeloperoxidase-mediated oxidation of edaravone produces an apparent non-toxic free radical metabolite and modulates hydrogen peroxide-mediated cytotoxicity in HL-60 cells. *Free radical biology & medicine*, 143, 422–432. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.08.021>
125. Ikeda, Y., & Nagasaki, Y. (2018). Antioxidative biointerface: biocompatible materials scavenging reactive oxygen species. *Biomedical materials (Bristol, England)*, 13(4), 044103. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aab720>
126. Yang, J., Liu, C., Sun, H., Liu, Y., Liu, Z., Zhang, D., Zhao, G., Wang, Q., & Yang, D. (2022). The progress in titanium alloys used as biomedical implants: From the view of reactive oxygen species. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 1092916.
127. Kurtz, J., Rael, B., Lerma, J., Wright, C., Khraishi, T., & Auyang, E. D. (2016). Effects of reactive oxygen species on the physical properties of polypropylene surgical mesh at various concentrations: a model for

inflammatory reaction as a cause for mesh embrittlement and failure. *Surgical endoscopy*, 30(8), 3250–3255. <https://doi.org/10.1007/s00464-015-4646-3>

128. Babenko, O., Vasylyeva, I., Nakonechna, O., Popova, L., Voitenko, S., & Pustova, N. (2022). THE VIABILITY OF LEUKOCYTES AND REACTIVE OXYGEN SPECIES GENERATION BY THEM IN RATS WITH CHRONIC COLITIS. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 75(9 pt 2), 2270–2274. <https://doi.org/10.36740/WLek202209216>

129. Li, X., Ni, M., Xing, S., Yu, Y., Zhou, Y., Yang, S., Li, H., Zhu, R., & Han, M. (2020). Reactive Oxygen Species Secreted by Leukocytes in Semen Induce Self-Expression of Interleukin-6 and Affect Sperm Quality. *American journal of men's health*, 14(5), 1557988320970053.

130. Stojnev, S., Ristić-Petrović, A., & Janković-Velicković, L. (2013). Reactive oxygen species, apoptosis and cancer. *Vojnosanitetski pregled*, 70(7), 675–678. <https://doi.org/10.2298/vsp1307675s>

131. Zhang, B., Pan, C., Feng, C., Yan, C., Yu, Y., Chen, Z., Guo, C., & Wang, X. (2022). Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation. *Redox report : communications in free radical research*, 27(1), 45–52. <https://doi.org/10.1080/13510002.2022.2046423>

132. D'Arcy M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international*, 43(6), 582–592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>

133. Saleem S. (2021). Apoptosis, Autophagy, Necrosis and Their Multi Galore Crosstalk in Neurodegeneration. *Neuroscience*, 469, 162–174. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.06.023>

134. Zimmermann, M., & Meyer, N. (2011). Annexin V/7-AAD staining in keratinocytes. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 740, 57–63. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-108-6_8

135. Lecoœur, H., de Oliveira-Pinto, L. M., & Gougeon, M. L. (2002). Multiparametric flow cytometric analysis of biochemical and functional events associated with apoptosis and oncosis using the 7-aminoactinomycin D

assay. *Journal of immunological methods*, 265(1-2), 81–96.
[https://doi.org/10.1016/s0022-1759\(02\)00072-8](https://doi.org/10.1016/s0022-1759(02)00072-8)

136. Schmidt, V. M., Isachenko, E., Rappl, G., Rahimi, G., Hanstein, B., Morgenstern, B., Mallmann, P., & Isachenko, V. (2018). Construction of human artificial ovary from cryopreserved ovarian tissue: Appearance of apoptosis and necrosis after enzymatic isolation of follicles. *Cryobiology*, 84, 10–14.
<https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.08.011>

137. Kumar, G., Degheidy, H., Casey, B. J., & Goering, P. L. (2015). Flow cytometry evaluation of in vitro cellular necrosis and apoptosis induced by silver nanoparticles. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 85, 45–51.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.06.012>

138. Eleftheriadis, T., Pissas, G., Liakopoulos, V., & Stefanidis, I. (2016). Cytochrome c as a Potentially Clinical Useful Marker of Mitochondrial and Cellular Damage. *Frontiers in immunology*, 7, 279.

139. Newton K. (2015). RIPK1 and RIPK3: critical regulators of inflammation and cell death. *Trends in cell biology*, 25(6), 347–353.
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.01.001>

140. Jakubczyk, K., Dec, K., Kałduńska, J., Kawczuga, D., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 48(284), 124–127.

141. Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 9829176. <https://doi.org/10.1155/2020/9829176>

142. Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014, 360438.
<https://doi.org/10.1155/2014/360438>

143. Baechler, B. L., Bloemberg, D., & Quadrilatero, J. (2019). Mitophagy regulates mitochondrial network signaling, oxidative stress, and apoptosis during myoblast differentiation. *Autophagy*, 15(9), 1606–1619. <https://doi.org/10.1080/15548627.2019.1591672>
144. Barnes P. J. (2022). Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 11(5), 965. <https://doi.org/10.3390/antiox11050965>
145. Chang, M. C., Chan, C. P., Chen, Y. J., Hsien, H. C., Chang, Y. C., Yeung, S. Y., Jeng, P. Y., Cheng, R. H., Hahn, L. J., & Jeng, J. H. (2016). Areca nut components stimulate ADAM17, IL-1 α , PGE2 and 8-isoprostane production in oral keratinocyte: role of reactive oxygen species, EGF and JAK signaling. *Oncotarget*, 7(13), 16879–16894.
146. Diniz, B. S., Mendes-Silva, A. P., Silva, L. B., Bertola, L., Vieira, M. C., Ferreira, J. D., Nicolau, M., Bristot, G., da Rosa, E. D., Teixeira, A. L., & Kapczinski, F. (2018). Oxidative stress markers imbalance in late-life depression. *Journal of psychiatric research*, 102, 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.02.023>
147. Ilhan, N., Celik, E., & Kumbak, B. (2015). Maternal plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, vitamins C, E and A, 8-isoprostane and oxidative status in women with preterm premature rupture of membranes. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*, 28(3), 316–319. <https://doi.org/10.3109/14767058.2014.916674>
148. Madabhushi, V., Tharappel, J., Alluri, S., Totten, C., & Roth, J. S. (2020). Hernia Repair Strength Enhanced With Antioxidants. *The Journal of surgical research*, 247, 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2019.10.031>
149. Ye, J., Li, B., Li, M., Zheng, Y., Wu, S., & Han, Y. (2020). ROS induced bactericidal activity of amorphous Zn-doped titanium oxide coatings

and enhanced osseointegration in bacteria-infected rat tibias. *Acta biomaterialia*, 107, 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.02.036>

150. Prasad, S., Gupta, S. C., & Tyagi, A. K. (2017). Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer letters*, 387, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.03.042>

151. Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology & medicine*, 33(3), 337–349. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)00905-x](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)00905-x)

152. Horspool, A. M., & Chang, H. C. (2017). Superoxide dismutase SOD-1 modulates *C. elegans* pathogen avoidance behavior. *Scientific reports*, 7, 45128. <https://doi.org/10.1038/srep45128>

153. Saco, Y., & Bassols, A. (2023). Acute phase proteins in cattle and swine: A review. *Veterinary clinical pathology*, 52 Suppl 1, 50–63. <https://doi.org/10.1111/vcp.13220>

154. Mantovani, A., & Garlanda, C. (2023). Humoral Innate Immunity and Acute-Phase Proteins. *The New England journal of medicine*, 388(5), 439–452. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2206346>

155. Del Giudice M, Gangestad SW. Rethinking IL-6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters. *Brain Behav Immun*. 2018;70:61-75. doi:10.1016/j.bbi.2018.02.013

156. Valkanova V, Ebmeier KP, Allan CL. CRP, IL-6 and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Affect Disord*. 2013;150(3):736-744. doi:10.1016/j.jad.2013.06.004

157. Pathak A, Agrawal A. Evolution of C-Reactive Protein. *Front Immunol*. 2019;10:943. Published 2019 Apr 30. doi:10.3389/fimmu.2019.00943

158. Eklund C. M. (2009). Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation. *Advances in clinical chemistry*, 48, 111–136. [https://doi.org/10.1016/s0065-2423\(09\)48005-3](https://doi.org/10.1016/s0065-2423(09)48005-3)

159. Fransén, K., Pettersson, C., & Hurtig-Wennlöf, A. (2022). CRP levels are significantly associated with CRP genotype and estrogen use in The Lifestyle, Biomarker and Atherosclerosis (LBA) study. *BMC cardiovascular disorders*, 22(1), 170. <https://doi.org/10.1186/s12872-022-02610-z>
160. Sproston, N. R., & Ashworth, J. J. (2018). Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Frontiers in immunology*, 9, 754. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00754>
161. Andersen, C. B. F., Stødkilde, K., Sæderup, K. L., Kuhlee, A., Raunser, S., Graversen, J. H., & Moestrup, S. K. (2017). Haptoglobin. *Antioxidants & redox signaling*, 26(14), 814–831. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6793>
162. Buehler, P. W., Humar, R., & Schaer, D. J. (2020). Haptoglobin Therapeutics and Compartmentalization of Cell-Free Hemoglobin Toxicity. *Trends in molecular medicine*, 26(7), 683–697. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.02.004>
163. Horne, B. D., & Anderson, J. L. (2015). Haptoglobin 2-2 Genotyping for Refining Standard Cardiovascular Risk Assessment: A Promising Proposition in Need of Validation. *Journal of the American College of Cardiology*, 66(16), 1800–1802. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.08.020>
164. Bellos, I., Papantoniou, N., & Pergialiotis, V. (2018). Serum ceruloplasmin levels in preeclampsia: a meta-analysis. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*, 31(17), 2342–2348. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1340449>
165. Linder M. C. (2016). Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: an update. *Metallomics : integrated biometal science*, 8(9), 887–905. <https://doi.org/10.1039/c6mt00103c>
166. Bonaccorsi di Patti, M. C., Cutone, A., Nemčovič, M., Pakanová, Z., Baráth, P., & Musci, G. (2021). Production of Recombinant Human

Ceruloplasmin: Improvements and Perspectives. *International journal of molecular sciences*, 22(15), 8228. <https://doi.org/10.3390/ijms22158228>

167. Jhamariya, P., Pendse, A.K., Singh, P.P. (1989). Seromucoids, Urinary Mucoproteins, Tamm-Horsfall Protein, Glycosaminoglycans, and Total Carbohydrates in Stone Disease. In: Walker, V.R., Sutton, R.A.L., Cameron, E.C.B., Pak, C.Y.C., Robertson, W.G. (eds) *Urolithiasis*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0873-5_72

168. Prabhudas S., Minto M. et al (1998). Seromucoid Fraction: A Useful Biomarker for Patients With Breast Cancer. *American Journal of Clinical Oncology* 21(3):p 258-262.

169. Hamar P. (2022). A New Role of Acute Phase Proteins: Local Production Is an Ancient, General Stress-Response System of Mammalian Cells. *International journal of molecular sciences*, 23(6), 2972. <https://doi.org/10.3390/ijms23062972>

170. Mantovani, A., & Garlanda, C. (2023). Humoral Innate Immunity and Acute-Phase Proteins. Reply. *The New England journal of medicine*, 388(18), 1725–1726. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2302460>

171. Larmann J, Luedi MM. Biomarkers and Cellular Biology in Perioperative Medicine. *Cells*. 2022;11(7):1147. Published 2022 Mar 29. doi:10.3390/cells11071147

172. Larmann J, Luedi MM. Biomarkers and Cellular Biology in Perioperative Medicine. *Cells*. 2022;11(7):1147. Published 2022 Mar 29. doi:10.3390/cells11071147

173. Ng, A., Tam, W. W., Zhang, M. W., Ho, C. S., Husain, S. F., McIntyre, R. S., & Ho, R. C. (2018). IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Scientific reports*, 8(1), 12050. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30487-6>

174. Hirano, S., Zhou, Q., Furuyama, A., & Kanno, S. (2017). Differential Regulation of IL-1 β and IL-6 Release in Murine

Macrophages. *Inflammation*, 40(6), 1933–1943. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0634-1>

175. Gupta, P., & Barthwal, M. K. (2018). IL-1 β genesis: the art of regulating the regulator. *Cellular & molecular immunology*, 15(11), 998–1000. <https://doi.org/10.1038/s41423-018-0054-7>

176. Ellul, P., Boyer, L., Groc, L., Leboyer, M., & Fond, G. (2016). Interleukin-1 β -targeted treatment strategies in inflammatory depression: toward personalized care. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 134(6), 469–484. <https://doi.org/10.1111/acps.12656>

177. Masola, V., Carraro, A., Granata, S., Signorini, L., Bellin, G., Violi, P., Lupo, A., Tedeschi, U., Onisto, M., Gambaro, G., & Zaza, G. (2019). In vitro effects of interleukin (IL)-1 beta inhibition on the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of renal tubular and hepatic stellate cells. *Journal of translational medicine*, 17(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1770-1>

178. Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 6(10), a016295. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016295>

179. Tanaka, T., Narazaki, M., Masuda, K., & Kishimoto, T. (2016). Regulation of IL-6 in Immunity and Diseases. *Advances in experimental medicine and biology*, 941, 79–88. https://doi.org/10.1007/978-94-024-0921-5_4

180. Di Vita, G., Patti, R., Sparacello, M., Balistreri, C. R., Candore, G., & Caruso, C. (2008). Impact of different texture of polypropylene mesh on the inflammatory response. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 21(1), 207–214. <https://doi.org/10.1177/039463200802100123>

181. Schutte, R. J., Xie, L., Klitzman, B., & Reichert, W. M. (2009). In vivo cytokine-associated responses to biomaterials. *Biomaterials*, 30(2), 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.09.026>

182. Gee ECA, Eleotério R, Bowker LM, Saithna A, Hunt JA. The influence of tantalum on human cell lineages important for healing in soft-tissue

reattachment surgery: an in-vitro analysis. *J Exp Orthop*. 2019 Oct 28;6(1):40. doi: 10.1186/s40634-019-0210-8

183. Bencharit S, Morelli T, Barros S, Seagroves JT, Kim S, Yu N, Byrd K, Brenes C, Offenbacher S. Comparing Initial Wound Healing and Osteogenesis of Porous Tantalum Trabecular Metal and Titanium Alloy Materials. *J Oral Implantol*. 2019 Jun;45(3):173-180. doi: 10.1563/aaid-joi-D-17-00258. Epub 2019 Jan 21.

184. Röhner E, Böhle S, Matziolis G. Implantation einer Tantalpatella in der Revision [Implantation of a tantalum patella during revision surgery]. *Oper Orthop Traumatol*. 2020 Aug;32(4):359-366. German. doi: 10.1007/s00064-020-00668-6. Epub 2020 Jul 20

185. Bondarenko S, Filipenko V, Karpinsky M, et al. Osseointegration of porous titanium and tantalum implants in ovariectomized rabbits: A biomechanical study. *World J Orthop*. 2021;12(4):214-222. Published 2021 Apr 18. doi:10.5312/wjo.v12.i4.214

186. Aiolfi, A., Cavalli, M., Del Ferraro, S., Manfredini, L., Lombardo, F., Bonitta, G., Bruni, P. G., Panizzo, V., Campanelli, G., & Bona, D. (2021). Total extraperitoneal (TEP) versus laparoscopic transabdominal preperitoneal (TAPP) hernioplasty: systematic review and trial sequential analysis of randomized controlled trials. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 25(5), 1147–1157. <https://doi.org/10.1007/s10029-021-02407-7>

187. Taylor D. (2018). The failure of polypropylene surgical mesh in vivo. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 88, 370–376. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.08.041>

188. Wang, H., Klosterhalfen, B., Klinge, U., Müllen, A., & Jockenhoevel, S. (2023). Influence of polypropylene mesh degradation on tissue inflammatory reaction. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 111(8), 1110–1119. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37494>

189. Tylutka, A., Walas, Ł., & Zembron-Lacny, A. (2024). Level of IL-6, TNF, and IL-1 β and age-related diseases: a systematic review and meta-

analysis. *Frontiers in immunology*, 15, 1330386.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1330386>

190. Basso, F. G., Pansani, T. N., Turrioni, A. P., Soares, D. G., de Souza Costa, C. A., & Hebling, J. (2016). Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin (IL)-1 β , IL-6, and IL-8 Impair In Vitro Migration and Induce Apoptosis of Gingival Fibroblasts and Epithelial Cells, Delaying Wound Healing. *Journal of periodontology*, 87(8), 990–996. <https://doi.org/10.1902/jop.2016.150713>

191. Biondo-Simões, Maria & Carvalho, Laísa & Conceição, Lucas & Santos, Kassyane & Schiel, Wagner & Arantes, Mayara & Silveira, Tatiane & Magri, Júlio & Gomes, Fernanda. (2017). Comparative study of Polypropylene versus Parietex composite®, Vicryl® and Ultrapro® meshes, regarding the formation of intraperitoneal adhesions. *Acta Cirurgica Brasileira*. 32. 98-107. [10.1590/s0102-865020170202](https://doi.org/10.1590/s0102-865020170202).

192. Damous, S. H. B., Damous, L. L., Miranda, J. D. S., Montero, E. F. S., Birolini, C., & Utiyama, E. M. (2020). Does a bilateral polypropylene mesh alter the duct deferens morphology, testicular size and testosterone levels? Experimental study in rats. *Acta cirurgica brasileira*, 35(2), e202000201. <https://doi.org/10.1590/s0102-865020200020000001>

193. Thomas, D., Demetres, M., Anger, J. T., & Chughtai, B. (2018). Histologic Inflammatory Response to Transvaginal Polypropylene Mesh: A Systematic. *Urology*, 111, 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2017.08.010>

194. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2023). Визначення стану антиоксидантної системи у щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. *Експериментальна і клінічна медицина*, 4 (92), 17-23. <https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.4.nak>.

195. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2023). 8-Ізопростан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних.

Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія, 4 (98), 28–34.
<https://doi.org/10.25040/ecpb2023.04.028>

196. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2024). Роль прозапальних цитокінів в організмі щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Вісник проблем біології і медицини, 1 (172), 203-208. DOI: 10.29254/2077-4214-2024-1-172-203-208.

197. Nakonechna O.A, Smachylo R.M, Dudin S.V., Kyslov O.V. (2024). Reactive oxygen species generation by blood leukocytes of rats after implantation of surgical mesh with tantalum-based coating. Медична та клінічна хімія, 1 (26), 5-10. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14591>.

198. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2024). Визначення білків гострої фази в крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія, 1 (99), 40-48.
<https://doi.org/10.25040/ecpb2024.01.040>.

199. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Дудін С.В., Кислов О.В. Визначення патологічних змін в організмі щурів після імплантації матеріалів з покриттям на основі тантала. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (01 жовтня 2021 р., Харків, Україна), С. 197-199.

200. Кислов О.В. Генерація активних форм кисню у лейкоцитах щурів після імплантації матеріалів з покриттям на основі танталу. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 24-26 січня 2022 р.), С. 376-379.

201. Кислов О.В. Порівняльна характеристика генерації активних форм кисню у лейкоцитах щурів після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та на основі титану. Медицина третього

тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 13-15 лютого 2023 р.), С. 174-177.

202. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В. Визначення концентрації 8-ізопростану в крові щурів після імплантації хірургічної сітки з покриттям на основі танталу та його похідних. VI науково - практична конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, Україна, 16 листопада 2023 р.), С. 339-341.

203. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В., Янковська Д.О. Види клітинної життєздатності лейкоцитів крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Міжнародна науково-практична конференція «Стовбурові клітини для моделювання та лікування захворювань» (м. Краків, Польща, 29-30 листопада 2023 р.), С. 101-103.

204. Кислов О.В. Церулоплазмін в крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних як маркер стану антиоксидантної системи. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), С. 60-61.

205. Кислов О.В., Гейдаров Г. Вміст сіроглікоїдів у крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), С. 166-167.

206. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В. Вміст IL-1 β та IL-6 в крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. I Міжнародна науково-практична онлайн конференція «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної біохімії та молекулярної біології» (м. Харків, Україна, 7 березня 2024 р.), С. 453-456.

ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2023). Визначення стану антиоксидантної системи у щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Експериментальна і клінічна медицина, 4 (92), 17-23. <https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.4.nak>. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

2. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2023). 8-Ізопростан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія, 4 (98), 28–34. <https://doi.org/10.25040/есрб2023.04.028>. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

3. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2024). Роль прозапальних цитокінів в організмі щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Вісник проблем біології і медицини, 1 (172), 203-208. DOI: 10.29254/2077-4214-2024-1-172-203-208. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

4. Nakonechna O.A., Smachylo R.M., Dudin S.V., Kyslov O.V. (2024). Reactive oxygen species generation by blood leukocytes of rats after implantation of surgical mesh with tantalum-based coating. Медична та

клінічна хімія, 1 (26), 5-10. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14591>. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

5. Наконечна О.А., Кислов, О.В. (2024). Визначення білків гострої фази в крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія, 1 (99), 40-48. <https://doi.org/10.25040/ecpb2024.01.040>. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

Опубліковані наукові праці апробаційного характеру:

6. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Дудін С.В., Кислов О.В. Визначення патологічних змін в організмі щурів після імплантації матеріалів з покриттям на основі тантала. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (01 жовтня 2021 р., Харків, Україна), С. 197-199. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку).*

7. Кислов О.В. Генерація активних форм кисню у лейкоцитах щурів після імплантації матеріалів з покриттям на основі танталу. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 24-26 січня 2022 р.), С. 376-379. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку).*

8. Кислов О.В. Порівняльна характеристика генерації активних форм кисню у лейкоцитах щурів після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та на основі титану. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 13-15 лютого 2023 р.), С. 174-177. *(Здобувачем проведені*

експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку).

9. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В. Визначення концентрації 8-ізопростану в крові щурів після імплантації хірургічної сітки з покриттям на основі танталу та його похідних. VI науково - практична конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, Україна, 16 листопада 2023 р.), С. 339-341. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку).*

10. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В., Янковська Д.О. Види клітинної життєздатності лейкоцитів крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Міжнародна науково-практична конференція «Стовбурові клітини для моделювання та лікування захворювань» (м. Краків, Польща, 29-30 листопада 2023 р.), С. 101-103. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку).*

11. Кислов О.В. Церулоплазмін в крові щурів після імплантації поліпропіленових хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних як маркер стану антиоксидантної системи. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), С. 60-61. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку).*

12. Кислов О.В., Гейдаров Г. Вміст сіроглікоїдів у крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.), С. 166-167. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку).*

13. Наконечна О.А., Смачило Р.М., Кислов О.В. Вміст ІЛ-1 β та ІЛ-6 в крові щурів після імплантації хірургічних сіток із покриттям на основі танталу та його похідних. I Міжнародна науково-практична онлайн конференція «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної біохімії та молекулярної біології» (м. Харків, Україна, 7 березня 2024 р.), С. 453-456. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та підготовлено матеріали до друку).*

Наукові праці, які додатково відображають результати дисертаційної роботи:

14. Кислов О.В. (2023). Сучасні уявлення про можливості застосування танталу та його похідних у медичній практиці (огляд літератури). *Science World Journal*, 2(22),32-47. DOI: 10.30888/2663-5712.2023-22-02-011. *(Здобувач брав участь у підготовці матеріалу до друку).*

15. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір «8-Ізопростан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних» № 125381 від 4 квітня 2024 року.

ДОДАТОК Б
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (01 жовтня 2021 р., Харків, Україна) - публікація тез та усна доповідь.
2. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 24-26 січня 2022 р.) - публікація тез та усна доповідь.
3. Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. (Харків, 13-15 лютого 2023 р.) - публікація тез та усна доповідь.
4. VI науково - практична конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, Україна, 16 листопада 2023 р.) - публікація тез та усна доповідь.
5. Міжнародній науково-практичній конференції «Стовбурові клітини для моделювання та лікування захворювань» (м. Краків, Польща, 29-30 листопада 2023 р.) - публікація тез та усна доповідь.
6. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.) - публікація тез та усна доповідь.
7. Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 15-17 січня 2024 р.) - публікація тез та усна доповідь.
8. I Міжнародна науково-практична онлайн конференція «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної біохімії та молекулярної біології» (м. Харків, Україна, 7 березня 2024 р.) - публікація тез та усна доповідь.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи Полтавського
державного медичного університету
проф. В.М. ДВОРНИК
6 березня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: обґрунтування застосування покриттів на основі тантала та його похідних у хірургічній та стоматологічній практиці.
2. Ким і коли запропонований: кафедра біологічної хімії Харківського національного медичного університету, 61022, м. Харків, проспект Науки, 4, аспірант кафедри - Кислов Олександр Вікторович; 2020 - 2024 рр.
3. Джерело інформації: 1) звіт про науково - дослідну роботу кафедри хірургії №1 ХНМУ на тему: «Розробка хірургічних технологій діагностики і лікування захворювань та травм органів травної системи із використанням гібридних (відкритих та мініінвазивних) операцій», номер державної реєстрації: 0119U002909. Роки виконання: 2019 - 2023; 2) Kyslov O.V. (2023). Current ideas about the possibility of using tantalum and its derivatives in medical practice. Scientific World Journal, 22, 33-47.
4. Де і коли введено: кафедра біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету, 2024 р.
5. Результати застосування методу за період з 2020 по 2024 рр. Введено у науково - навчальний процес, що дозволяє здобувачам вищої освіти отримати вагомий теоретичні знання щодо обґрунтування застосування покриттів на основі тантала та його похідних для нанесення на хірургічні сітки.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації: використання результатів наукових досліджень Кислова О.В. у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів освіти про використання нанотехнологій у медицині.
7. Зауваження, пропозиції: не вносилися

Протокол № 10 від 6 березня 2024 р.

Відповідальні за впровадження

Завідувачка кафедри
біологічної та біоорганічної хімії ПДМУ
д.мед.н., проф. К.С. НЕПОРАДА

06.03.2024 р.
(дата)

(підпис)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова

д.мед.н., проф. Олег ВЛАСЕНКО

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: обґрунтування застосування покриттів на основі тантала та його похідних у хірургічній практиці для запобігання виникнення спайкового процесу при герніопластиці.

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра біологічної хімії Харківського національного медичного університету, 61022, м. Харків, проспект Науки, 4, аспірант кафедри - Кислов Олександр Вікторович; 2020 - 2024 рр.

3. Джерела інформації:

1. Звіт про науково - дослідну роботу кафедри хірургії №1 ХНМУ на тему: «Розробка хірургічних технологій діагностики і лікування захворювань та травм органів травної системи із використанням гібридних (відкритих та мініінвазивних) операцій», номер державної реєстрації: 0119U002909, 2019 - 2023 рр;
2. Kyslov O.V. (2023). Current ideas about the possibility of using tantalum and its derivatives in medical practice: ScientificWorldJournal, 22, 33-47;
3. Наконечна О.А., Кислов О.В. (2024). 8- ізопропан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних. Експериментальна медицина / Experimental medicine ESRV 2023, 3(97): 28–34.

4. Де і коли впроваджено: кафедра біохімії ім. професора О.О. Пентюка, 2023-2024 н.р.

5. Результати впровадження: у науково-навчальний процес

Результати застосування методу дозволяють здобувачам всіх рівнів медичної освіти отримати вагомі теоретичні знання щодо застосування покриттів на основі тантала та його похідних для нанесення на хірургічні сітки.

6. Ефективність впровадження за критеріями, вистовленими в джерелі інформації: використання результатів наукових досліджень Кислової О.В. у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів освіти про вдосконалення лікування пацієнтів із паховими грижами.

7. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри біохімії ім. професора О.О. Пентюка, протокол № 12 від 28.02. 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри біохімії
ім. професора О.О. Пентюка,
д.мед.н., проф.

Наталія ЗАЙЧКО



 «ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Директор наукової роботи
 Харківського національного
 медичного університету
 проф. В.В. М'ЯСОСДОВ
 «11» березня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: морфологічні особливості передньої черевної стінки при застосуванні покриттів на основі тантала та його похідних у хірургічній практиці.
2. Ким і коли запропонований: кафедра біологічної хімії Харківського національного медичного університету, 61022, м. Харків, проспект Науки, 4, аспірант кафедри - Кислов Олександр Вікторович; 2020 - 2024 рр.
3. Джерело інформації: 1) звіт про науково - дослідну роботу кафедри хірургії №1 ХНМУ на тему: «Розробка хірургічних технологій діагностики і лікування захворювань та травм органів травної системи із використанням гібридних (відкритих та мініінвазивних) операцій», номер державної реєстрації: 0119U002909. Роки виконання: 2019 - 2023; 2) Kyslov O.V. (2023). Current ideas about the possibility of using tantalum and its derivatives in medical practice; ScientificWorldJournal, 22, 33-47.
4. Де і коли введено: кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології ХНМУ.
5. Результати застосування методу за період з 2020 по 2024 рр. Введено на навчально - науковий процес, що дозволяє здобувачам вищої освіти отримати вагомий теоретичні знання щодо морфологічних змін передньої черевної стінки при застосуванні покриттів на основі тантала та його похідних у хірургічній практиці.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації: використання результатів наукових досліджень Кислова О.В. у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів освіти про морфологічні особливості застосування покриттів на основі тантала та його похідних у хірургічній практиці та вдосконалення лікування пацієнтів із паховими грижами.
7. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальні за впровадження

Завідувач кафедри
загальної та клінічної патологічної фізіології ХНМУ
д.мед.н., проф. Михайло Сергійович МИРОШНИЧЕНКО

11.03.2024
(дата)


(підпис)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
ДУ "Інститут загальної та невідкладної хірургії
ім. В.Т. Зайцева НАМН України"
проф. В.В. БОЙКО
20 24 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: обґрунтування застосування покриттів на основі тантала та його похідних у хірургічній практиці для запобігання виникнення спайкового процесу при герніопластиці.

2. Ким і коли запропонований: кафедра біологічної хімії Харківського національного медичного університету, 61022, м. Харків, проспект Науки, 4, аспірант кафедри - Кислов Олександр Вікторович; 2020 - 2024 рр.

3. Джерело інформації: 1) звіт про науково - дослідну роботу кафедри хірургії №1 ХНМУ на тему: «Розробка хірургічних технологій діагностики і лікування захворювань та травм органів травної системи із використанням гібридних (відкритих та мініінвазивних) операцій», номер державної реєстрації: 0119U002909. Роки виконання: 2019 - 2023; 2) Kyslov O.V. (2023). Current ideas about the possibility of using tantalum and its derivatives in medical practice; ScientificWorldJournal, 22, 33-47.

4. Де і коли введено: відділи хірургічного профілю.

5. Результати застосування методу за період з 2020 по 2024 рр. Введено у навчально - науковий процес, що дозволяє здобувачам всіх рівнів медичної освіти отримати вагомий теоретичні знання щодо застосування покриттів на основі тантала та його похідних для нанесення на хірургічні сітки.

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації: використання результатів наукових досліджень Кислова О.В. у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів освіти про вдосконалення лікування пацієнтів із паховими грижами.

7. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження

Завідувач відділу хірургії печінки
та жовчновивідних шляхів ДУ «Інститут загальної
та невідкладної хірургії
ім. В.Т. Зайцева НАМН України»
д.мед.н., проф. Ростислав Михайлович СМАЧИЛО

14.03.2024р
(дата)


(підпис)



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
 Національного фармацевтичного університету
 проф. І.М. ВЛАДИМИРОВА
 «12» березня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Визначення вмісту 8-ізопростану як основного маркера оксидативного стресу при застосуванні покриттів на основі тантала та його похідних у хірургічній практиці».

2. Ким і коли запропонований: кафедра біологічної хімії Харківського національного медичного університету, 61022, м. Харків, проспект Науки, 4, аспірант кафедри - Кислов Олександр Вікторович; 2020 - 2024 рр.

3. Джерело інформації: 1) звіт про науково - дослідну роботу кафедри хірургії №1 ХНМУ на тему: «Розробка хірургічних технологій діагностики і лікування захворювань та травм органів травної системи із використанням гібридних (відкритих та мініінвазивних) операцій», номер державної реєстрації: 0119U002909, 2019 - 2023 рр; 2) Наконечна О.А., Кислов О.В. (2024). 8-ізопростан як маркер оксидативного стресу в експериментальних тварин після імплантації хірургічних сіток з покриттям на основі танталу та його похідних, Експериментальна медицина / Experimental medicine ЕСРВ 2023, 3(97): 28–34.

4. Де і коли впроваджено: кафедра біологічної та ветеринарної медицини НФаУ.

5. Результати застосування методу за період з 2020 по 2024 рр. Впроваджено у навчально - науковий процес, що дозволяє здобувачам вищої освіти отримати вагомий теоретичні знання щодо застосування покриттів на основі тантала та його похідних при герніопластиці.

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації: використання результатів наукових досліджень Кислової О.В. у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів вищої освіти про вдосконалення лікування пацієнтів із паховими грижами.

7. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальні за впровадження

Завідувачка кафедри
 біологічної хімії та ветеринарної медицини
 НФаУ д. біол. н., проф.
 Віра Миколаївна КРАВЧЕНКО

12 03 2024 р.
 (дата)

(підпис)

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 14:30:54 21.05.2024

Назва файлу з підписом: Дисертація Кислов О.В..pdf
Розмір файлу з підписом: 4.0 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Дисертація Кислов О.В..pdf
Розмір файлу без підпису: 3.9 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Кислов Олександр Вікторович

П.І.Б.: Кислов Олександр Вікторович

Країна: Україна

РНОКПП: 3408310611

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 14:30:03
21.05.2024

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 382367105294AF9704000000D4E31E0042AC5001

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підписаний PDF-файл (PAdES)

Формат підпису: З повними даними для перевірки (PAdES-B-LT)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2024.04.15 13:00