

УДК 616-001.7

А. Н. Митрошин, С. В. Сиваконь,
С. А. Мозеров, А. К. Абдуллаев, И. А. Митрошин

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОИНТЕГРАЦИИ КСЕНОПЕРИКАРДА ПРИ ПЛАСТИКЕ ДЕФЕКТОВ СУХОЖИЛЬНО-СВЯЗОЧНЫХ СТРУКТУР

Аннотация. Выполнено исследование, целью которого было выяснение возможности использования в качестве пластического материала для пластики дефектов сухожильно-связочных структур перикарда крупного рогатого скота, обработанного глутаровым альдегидом (ксеноперикарда). Выполняли морфологическое и морфометрическое исследование гистологических срезов области имплантации ксеноперикарда в ахиллово сухожилие через один, два, три, шесть и 12 месяцев после операции. В результате исследования выявлены неспецифические морфологические изменения по типу гранулематозного воспаления вокруг ксенотрансплантата. В течение года после имплантации происходит постепенное замещение трансплантата новообразованной тканью с сохранением первоначальной структуры сухожилия.

Ключевые слова: ахиллово сухожилие, биоинтергация, Глутаровый альдегид, ксеноперикард, пластика ахиллова сухожилия.

Abstract. An investigation was performed on rabbits in order to find out the possibility of using pericardium of the cattle processed by glutar aldehyde (xenopericardium) as a plastic material for defects of tendon-ligament structures. There was carried out a morphological and morphometrical research of hystological slices from the area of implantation in 1, 2, 3, 6, 12 months after the operation. The result of the research shows the appearance of non-specific morphological changes as a granulomatose inflammation around xenotransplant. In a year after implantation there was a gradual replacement of the transplant by newly-formed tissue with saving of original structure of the tendon.

Keywords: Achilles tendon, biointegration, glutar aldehyde, xenopericardium, plastic Achilles tendon.

Лечение больных с дефектами сухожильно-связочных структур опорно-двигательного аппарата продолжает оставаться одной из актуальных проблем современной хирургии. Материалы, используемые для пластического устранения дефектов, можно разделить на аутоотрансплантаты из собственных тканей пациента и трансплантаты из чужеродного материала, которые в свою очередь представлены трансплантатами из синтетических материалов и из биоматериалов [1, 2].

Аутопластика издавна считается золотым стандартом хирургии, так как собственные ткани пациента обладают идеальной биосовместимостью. Но забор аутоотрансплантата неизбежно ослабляет «донорское» место или приводит к его функциональным нарушениям. А при обширных дефектах сухожилий и связок, например при грыжевых дефектах передней брюшной стенки, выкроить аутоотрансплантаты требуемого размера порой просто негде. Еще одним негативным моментом аутопластики является неизбежный ишемический асептический некроз аутоотрансплантата, который при неблагоприятных условиях может закончиться нагноением [3, 4].

Пластика сухожильно-связочных структур синтетическими полимерными материалами нашла широкое распространение в последнее время в самых разных направлениях хирургии [6, 7]. Эти материалы также не лишены негативных свойств. Во-первых, при биоинтеграции они не рассасываются, вызывают перифокальное хроническое воспаление и в результате покрываются рубцовой соединительнотканной капсулой. При этом механические свойства сформированного рубцового регенерата не всегда соответствуют функциональным нагрузкам на эту область. Во-вторых, синтетические материалы имеют определенный запас прочности и при отсутствии биоинтеграции и прорастания соединительной тканью, например при имплантации в сустав, рано или поздно происходит механический разрыв трансплантата.

В последние годы появились пластические материалы биологического происхождения, в основе которых находится естественный белок соединительной ткани – коллаген. В частности, материал из перикарда крупного рогатого скота, обработанный глутаровым альдегидом, нашел широкое применение в сосудистой хирургии для пластики дефектов сосудистой стенки [5].

Сухожилия и связки, являясь грубой оформленной соединительной тканью, состоят в основном из волокон коллагена и эластина. В связи с этим материал из перикарда крупного рогатого скота, представляющий собой бесклеточный коллагеновый матрикс и обладающий большой механической прочностью должен идеально подойти в качестве пластического материала для устранения дефектов сухожильно-связочных структур.

Материал и методы исследования

Целью исследования было выяснение возможности использования в качестве пластического материала перикарда крупного рогатого скота, обработанного глутаровым альдегидом (ксеноперикарда), для пластики дефектов сухожильно-связочных структур.

Исследование выполнено на 15 кроликах породы шиншилла.

Животным под внутрибрюшным тиопенталовым наркозом дугообразным разрезом на нижней трети голени обнажали ахиллово сухожилие, из него иссекали участок длиной 3 см, формируя дефект. В дефект имплантировали трансплантат, представляющий собой трубку, сшитую из ксеноперикарда, соответствующую диаметру сухожилия (рис. 1); ушивали кожу. На конечность накладывали гипсовую повязку на три недели. Животным предоставляли полную свободу движений.

Целью исследования являлось изучение:

- 1) характера тканевых перифокальных реакций на имплантацию ксеноперикардального трансплантата;
- 2) изменений в ксеноперикарде с течением времени и характера его биоинтеграции;
- 3) возможности прорастания соединительной ткани в просвет трубчатого трансплантата из зоны контакта с сухожилием.

Животных выводили из эксперимента через один, два, три, шесть и 12 месяцев после операции (по три животных в группе). Производили исследование регенерата в области имплантации трансплантата. Препарат фиксировали в формалине, выполняли проводку гистологического материала и заливку в парафин, выполняли продольные и поперечные срезы на микротоме и

окрашивали срезы гематоксилин-эозином. Изучали эволюцию гистологической картины биоинтеграции ксеноперикарда с использованием микроскопа фирмы «Карл Цейс» и выполняли морфометрическое исследование, при котором измерялась средняя толщина ксенотрансплантата в разные сроки после операции. С каждого препарата были сделаны по 10 микрофотографий фотографической насадкой на микроскоп «Аксиоскоп». На каждой фотографии были проведены 10 замеров толщины ксенотрансплантата посредством программы «Axiovision». Полученные данные обрабатывались программой статистической обработки данных «Micromed».

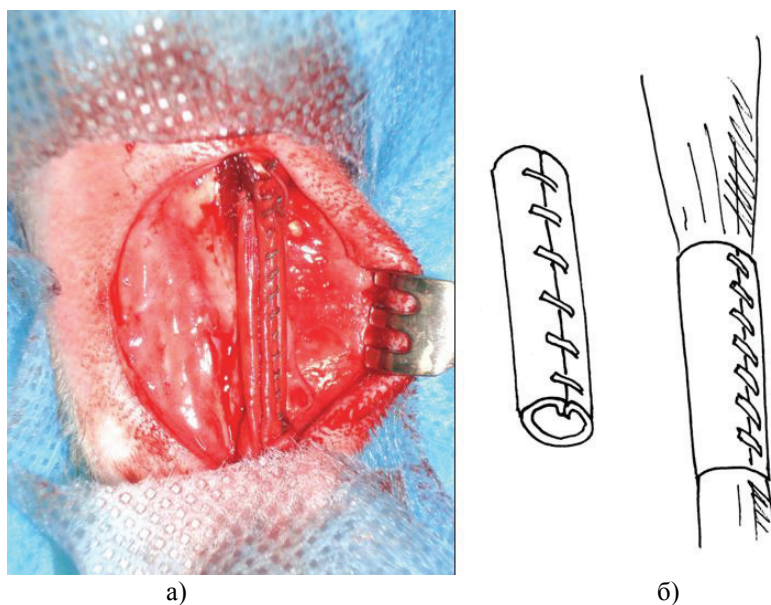


Рис. 1. Экспериментальная операция пластики дефекта ахиллова сухожилия на кролике: а – этап операции (трансплантат вшит в дефект сухожилия); б – схема операции и трансплантата

Результаты исследования

Изучение гистологических срезов препарата выявило следующее. К концу первого месяца эксперимента в тканевом ложе трансплантата отмечаются выраженные пролиферативные процессы. Биоматериал трансплантата имеет однородную структуру, по наружной поверхности инфильтрирован лимфоцитами и гистиоцитами. Трансплантат окружен выраженным инфильтрационным валом. В составе клеточного инфильтрата выявляются лимфоциты, гистиоциты, плазматические клетки, клетки фибробластического ряда. В зоне непосредственного контакта с биоматериалом превалируют лимфоциты и гистиоциты, на периферии грануляционного вала пролиферирующие фибробласты и очаги новообразованного коллагена. В реактивной зоне вокруг ксеноперикарда определяются новообразованные кровеносные сосуды (рис. 2).

Через два месяца начинают возникать явления деградации биоматериала на наружной его поверхности. Отмечается некоторое уменьшение количества лимфоцитов и макрофагов в воспалительном инфильтрате. Пролиферирующие фибробласты активно синтезируют соединительнотканый каркас вокруг трансплантата (рис. 3).

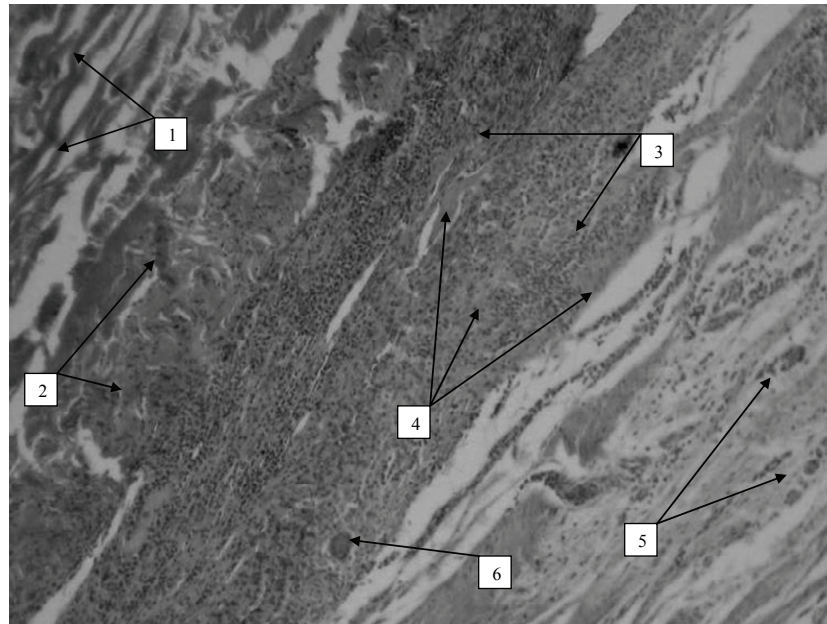


Рис. 2. Гистологическая картина трансплантата через один месяц после имплантации (наружная поверхность, продольный срез, окраска гематоксилином-эозином):

- 1 – неизменные пучки ксеноперикарда; 2 – пучки ксеноперикарда инфильтрированные лимфоцитами; 3 – клеточный инфильтрат (лимфоциты, гистиоциты, клетки фибробластического ряда); 4 – новообразованный collagen; 5 – новообразованные сосуды; 6 – гигантская многоядерная клетка

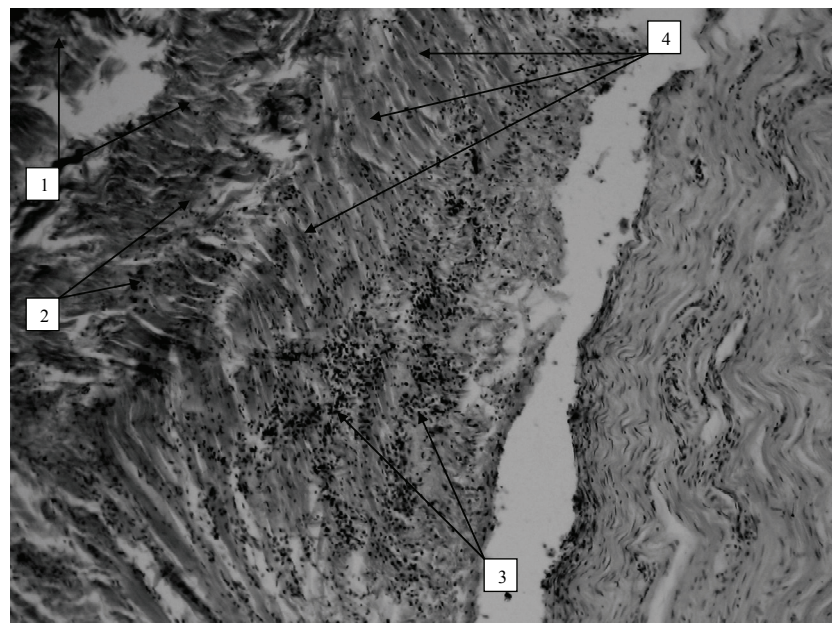


Рис. 3. Гистологическая картина трансплантата через два месяца после имплантации (наружная поверхность, продольный срез, окраска гематоксилином-эозином):

- 1 – частично фрагментированные пучки ксеноперикарда; 2 – пучки ксеноперикарда, инфильтрированные небольшим количеством лимфоцитов и макрофагов; 3 – бурная пролиферация фибробластов; 4 – новообразованные пучки collagenовых волокон, ориентированные по оси нагрузки на сухожилие

К концу третьего месяца грануляционная ткань, еще присутствовавшая в течение второго месяца эксперимента, полностью замещается зрелой грубо-волокнистой соединительной тканью, при этом большинство новообразованных капилляров исчезает. Хаотически расположенные тонкие коллагеновые волокна исчезают, одновременно образуются толстые волокна, расположенные параллельно оси нагрузок на сухожилие. Трансплантат постепенно разрушается с наружной поверхности, однако стойкость биоматериала по отношению к фагоцитам вызывает гранулематозное воспаление с образованием гигантских клеток инородных тел, отражающее несостоятельность фагоцитоза.

Через шесть месяцев на наружной поверхности трансплантата четко отмечаются дегенеративные процессы, проявляющиеся в разрушении биоматериала, разволокнении его с лимфогистиоцитарной инфильтрацией. Новообразованные коллагеновые волокна отмечаются не только вокруг трансплантата, но и в его толще (рис. 4).

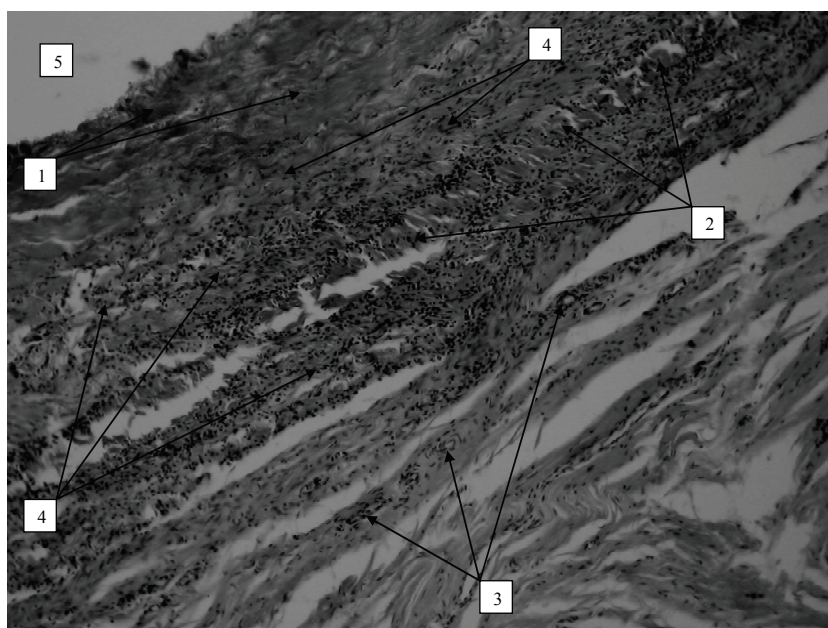


Рис. 4. Гистологическая картина трансплантата через шесть месяцев после имплантации (поперечный срез, окраска гематоксилином-эозином): 1 – частично фрагментированные пучки ксеноперикарда; 2 – остатки фрагментированных пучков ксеноперикарда, инфильтрированные небольшим количеством лимфоцитов и макрофагов; 3 – кровеносные сосуды; 4 – новообразованные пучки коллагеновых волокон; 5 – просвет трубки трансплантата

Через год зона имплантации трансплантата внешне мало отличается от интактной части сухожилия. Отмечается незначительное увеличение диаметра регенерата по сравнению с сухожилием. На продольных и поперечных разрезах регенерат представляет собой плотную волокнистую структуру, похожую на сухожилие. Волокна имеют желтоватый цвет (рис. 5). Трансплантат визуализируется не на всех участках, просвет его на всем протяжении заполнен рыхлой соединительной тканью. При микроскопии выявляется полное замещение ксеноперикарда волокнистым соединительнотканым регенератом (рис. 6).

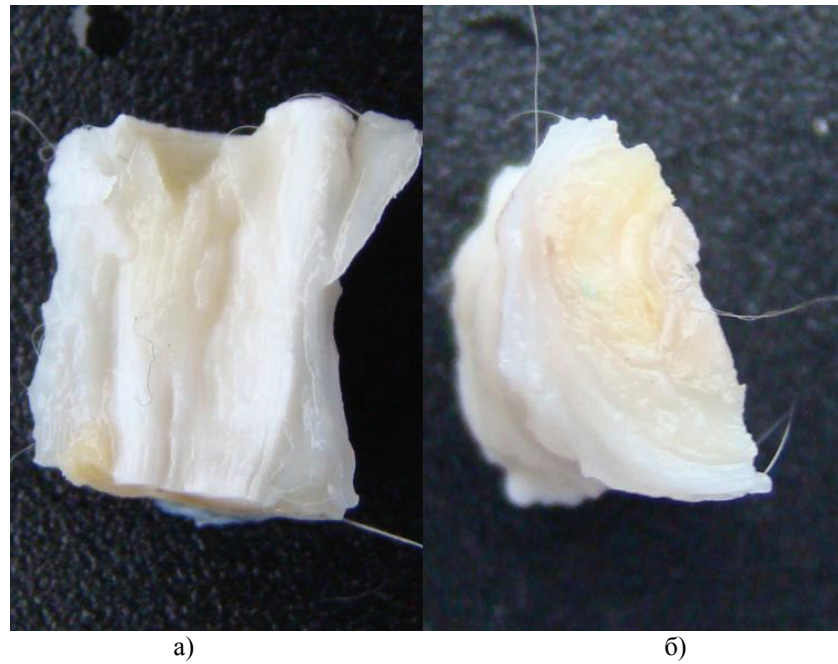


Рис. 5. Макропрепарат регенерата из области пластики ахиллова сухожилия трансплантатом (зона перехода сухожилия в трансплантат):
а – продольный разрез; б – поперечный разрез

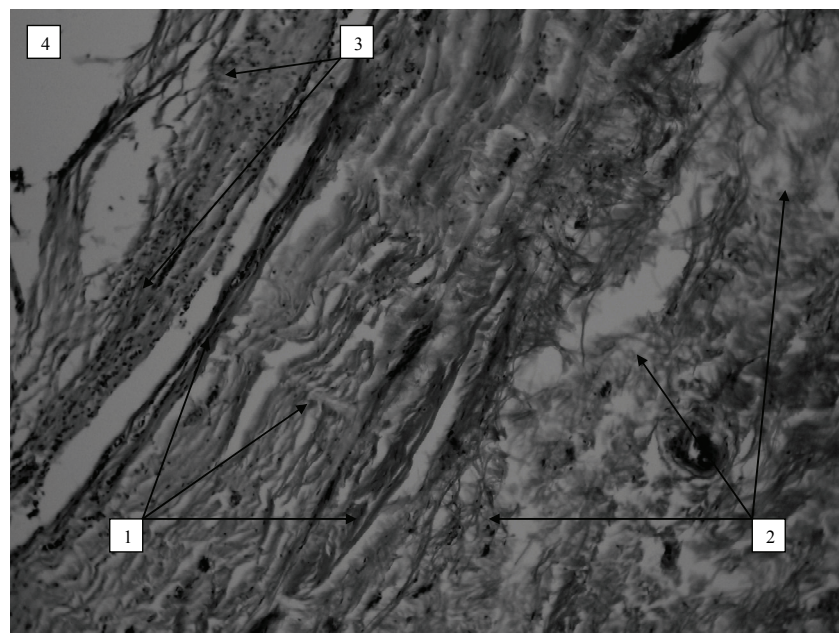


Рис. 6. Гистологическая картина трансплантата через один год после имплантации (поперечный срез, окраска гематоксилином-эозином): 1 – новообразованные коллагеновые волокна (грубоволокнистая соединительная ткань по типу сухожильной ткани); 2 – рыхлая неоформленная соединительная ткань вокруг трансплантата; 3 – соединительная ткань, распространяющаяся по внутренней поверхности трансплантата; 4 – просвет трубки трансплантата

Начиная с трех месяцев в материале встречаются эпителиоидные клетки и гигантские многоядерные клетки, которые отражают иммунные процессы по типу гранулематозного воспаления, происходящего в перифокальной зоне имплантации. По мнению А. М. Чернух (1979), для развития гранулемы необходимы три условия: 1) наличие веществ, способных стимулировать созревание макрофагов; стойкость раздражителя по отношению к фагоцитам; 3) высокая местная концентрация раздражителя. Гранулема «живет» пока живет раздражитель.

В целом эволюция гистологической картины замещения ксеноперикарда регенератом представлена в табл. 1.

Таблица 1
Гистологическая картина замещения ксеноперикарда регенератом

Давность	Лейкоциты (нейтрофилы)	Лимфоциты, плазмоциты	Гигантские клетки инородных тел	Фибробласты	Фibroциты + коллаген	Новообразо- ванные кровеносные сосуды	Ксенопери- кард
1 мес.	+	++++	—	++++	++	+++	++++
2 мес.	—	+++	+	+++	+++	++	++++
3 мес.	—	+++	+	+++	++++	+	++++
6 мес.	—	+	+	++	++++	—	+++
1 год	—	—	+	+	++++	—	+

Как видно из табл. 1, после имплантации вокруг трансплантата наблюдается картина асептического воспаления. Преобладают лимфоциты и гистиоциты, происходит новообразование сосудов, бурно пролиферируют фибробласты. В течение последующих трех месяцев количество клеток лимфоидного ряда прогрессивно уменьшается, сосуды заустевают, фибробласты, продуцируя новообразованный коллаген, замещаются фиброцитами. Материал трансплантата после шести месяцев после имплантации начинает разрушаться и замещаться коллагеном.

Кроме морфологического, было проведено морфометрическое исследование, при котором измерялась средняя толщина ксенотрансплантата в разные сроки после операции.

Результаты исследования представлены в табл. 2.

Таблица 2
Результаты морфометрии толщины
ксенотрансплантата в разные сроки после операции

Время после операции (мес.)	Средняя толщина ксенотрансплантата (мкм)
3	892,87
6	621,31
12	300,64

Как видно из табл. 2, происходит постепенное прогрессивное уменьшение толщины ксенотрансплантата за счет замены его на соединительную ткань сухожилия.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. После имплантации ксеноперикарда вокруг него возникают неспецифические морфологические изменения по типу гранулематозного воспаления.

2. В течение года после имплантации происходит его постепенное замещение новообразованной тканью с сохранением первоначальной структуры сухожилия.

3. К концу первого года отмечается прорастание соединительной ткани в просвет трубчатого трансплантата.

Полученные результаты свидетельствуют о хорошей биоинтеграции ксеноперикарда и возможности его использования в качестве пластического материала при устранении дефектов сухожилий и связок.

Список литературы

1. **Лавришева, Г. И.** Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей / Г. И. Лавришева, Г. А. Оноприенко. – М. : Медицина, 1996. – С. 49–57, 176–181.
2. **Казарезов, М. В.** Восстановительная хирургия повреждений опорно-двигательного аппарата / М. В. Казарезов, А. М. Королева, В. А. Головнев, Э. Х. Акрамов, В. Х. Габитов. – М. : Новосибирск, НГМА, 2004. – С. 56–63.
3. **Туровец, И. Г.** Применение модифицированного ксеноперикарда при «ненапряжных» пластиках грыж передней брюшной стенки / И. Г. Туровец, Г. А. Меников, Б. А. Новодержкин, В. Н. Янов, А. В. Кармадонов // Сибирский медицинский журн. – 2008. – № 2. – С. 28–33.
4. **Чернух, А. М.** Воспаление. Очерки патологии и экспериментальной терапии / А. М. Чернух. – М. : Медицина, 1979. – С. 448.
5. **Чернявский, А. М.** Ближайшие результаты пластики сонных артерий заплатой из ксеноперикарда, обработанного диэпоксисоединениями при каротидной эндаРТерэктомии / А. М. Чернявский // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. – М., 2002. – Т. 3. – № 11. – С. 162.
6. **Edwards, S. L.** Design of nonwoven scaffold structures for tissue engineering of the anterior cruciate ligament / S. L. Edwards // Autex Research Journal. – 2004. – № 4. – P. 2, 7.
7. **Vacanti, J.** Tissue engineering in orthopedic surgery / J. Vacanti // Orthopedic Clinics of North America. – 2000. – V. 31. – № 3. – P. 351–356.

Митрошин Александр Николаевич

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой хирургии,
директор Медицинского института,
Пензенский государственный университет

Mitroshin Alexander Nikolaevich

Doctor of medical sciences, professor,
head of sub-department of surgery,
director of Medical Institute,
Penza State University

E-mail: pmissurg@gmail.com

Сиваконь Станислав Владимирович

доктор медицинских наук, профессор,
кафедра травматологии, ортопедии
и военно-экстремальной медицины,
Медицинский институт, Пензенский
государственный университет

E-mail: sivakon@mail.ru

Sivakon Stanislav Vladimirovich

Doctor of medical sciences, professor,
sub-department of traumatology, orthope-
dics and military medicine, Medical
Institute, Penza State University

Мозеров Сергей Алексеевич

доктор медицинских наук, профессор,
кафедра клинической морфологии
с курсом онкологии, Медицинский
институт, Пензенский государственный
университет

E-mail: mozerov@list.ru

Mozerov Sergey Alexeevich

Doctor of medical sciences, professor,
head of sub-department of clinical
morphology and oncology,
Medical Institute,
Penza State University

Абдуллаев Арслан Кудратович

старший преподаватель, кафедра
травматологии, ортопедии
и военно-экстремальной медицины,
Медицинский институт, Пензенский
государственный университет

E-mail: dr_aslan@mail.ru

Abdullaev Arslan Kudratovich

Senior lecturer, sub-department of trauma-
tology, orthopedics and military medicine,
Medical Institute, Penza State University

Митрошин Илья Александрович

врач-интерн, кафедра лучевой
диагностики, Медицинский институт,
Пензенский государственный
университет

E-mail: smt.klinik@gmail.com

Mitroshin Ilya Alexandrovich

intern, sub-department of x-ray diagnostics,
Medical Institute, Penza State University

УДК 616-001.7

Митрошин, А. Н.

**Исследование биоинтеграции ксеноперикарда при пластике дефек-
тов сухожильно-связочных структур** / А. Н. Митрошин, С. В. Сиваконь,
С. А. Мозеров, А. К. Абдуллаев, И. А. Митрошин // Известия высших учеб-
ных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2010. – № 3 (15). –
С. 35–43.