

ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫЕ АЛЛОТКАНИ В РЕКОНСТРУКТИВНЫХ ОПЕРАЦИЯХ

При реконструкции опорно-двигательного аппарата, челюстно-лицевой области, выполнении операций по восстановлению слуха и зрения широко используются консервированные аллогенные ткани. Среди них предпочтение отдают лиофилизированным. Высушенные в вакууме замороженные ткани, в отличие от других известных консервированных трансплантатов, сохраняют свои первоначальные качества более пяти лет, не требуют специальных температурных режимов хранения и транспортировки.

С 1992 года в городе Самаре организован банк лиофилизированных трансплантатов из губчатой и компактной костной тканей, костей плодов (брефокостей), сухожилий, хрящей, фасций, твердой мозговой оболочки (Лицензия № В 167373, регистрационный № 623 от 3 декабря 1996 года).

Забор тканевых компонентов осуществляют у скоропостижно скончавшихся людей 18-60 лет и человеческих плодов 20-24 недель гестации. Донорам проводят аутопсию и серологические исследования крови на сифилис, гепатиты В и С, СПИД.

Технологический процесс изготовления трансплантатов включает тщательное удаление жира и крови, дезинфекцию кадаверных тканей, консервацию и стерилизацию. Лيوфилизацию выполняют на установке LZ-92 фирмы Фригера. Для каждого вида пластического материала индивидуально подобраны режим и время сублимации. Лيوфилизированный материал герметично упаковывают во флаконы или полиэтиленовые пакеты и подвергают радиационной стерилизации на кобальтовой установке Со-60. Под воздействием гамма-лучей индикатор меняет цвет с желтого на красный, стекло тонируется.

Изготовленные в нашей лаборатории лиофилизированные биопрепараты прошли испытания на пирогенность, токсичность, стерильность. Реакция окружающих тканей и органов периферического иммуногенеза у экспериментальных животных на их пересадку минимальная. Лيوфилизированные трансплантаты безопасны и безвредны для реципиента.

В лечебных учреждениях Поволжского региона выполнено более 1000 операций с использованием лиофилизированных аллотканей в стоматологии, травматологии, ортопедии, офтальмологии, оториноларингологии, онкологии, гнойной хирургии, косметологии.

Для восстановления функции суставов используются собственная связка надколенника, ахилловы сухожилия, сухожилия сгибателей пальцев с костным фрагментом и без него. Восстановление крестообразной связки коленного сустава выполняется с применением эндоскопической техники. Использование аллотрансплантатов более физиологично и анатомично, чем применение собственной связки надколенника самого больного.

В офтальмологии для укрепления склеры при прогрессирующей миопии применяют фрагменты твердой мозговой оболочки. Формирование опорной культи протеза глаза осуществляют с помощью костных и хрящевых трансплантатов (№ 200110 от 27 февраля 1995 года).

При проведении тимпано- и мерингопластики в оториноларингологии применяют фрагменты твердой мозговой оболочки.

Костнопластический материал применяется в виде крошки, цилиндров, блоков, клиньев, полосок, крупных фрагментов и целых костей. Выпускаются деминерализованные костные порошки из аллокости и брефокости, а также фрагменты брефоостеоматрикса.

Особенно широко используются лиофилизированные костные ткани в стоматологии. При хирургическом лечении парадонтита (авторское свидетельство СССР № 1572536 1990 года), при лечении одонтогенных кист (авторское свидетельство СССР № 1804795 1993 года) применяются лиофилизированные алло- и брефоостеоматрикс.

Ближайший и отдаленный послеоперационный период у реципиентов протекал без осложнений. Рекламаций не было.

Использование лиофилизированных аллотканей показало их высокую эффективность при комплексном хирургическом лечении многих заболеваний.

Одной из задач на сегодняшний день является приближение результатов аллогенных пересадок к результатам при аутопластике. Весьма перспективен путь, в пересадке губчатых аллотрансплантатов, полностью освобождённых от элементов костного мозга.

Губчатая костная ткань обладает высокими биопластическими свойствами, она хорошо прорастает, быстро рассасывается, одновременно замещаясь тканью реципиента. Аллогенная спонгиоза используется для заполнения костных дефектов, возникших после удаления кист, опухолей, секвестрэктоми и проч. Существует возможность заготовки достаточно большого количества губчатого пластического материала.

В настоящий период с целью повышения качества трансплантатов в лаборатории используется низкочастотный ультразвук. В работе применяются установки УРСК-7Н-18 и Pro-sonic.

В процессе получения костных трансплантатов мы выделили несколько направлений применения ультразвука:

- с целью удаления костного мозга и жира из губчатой ткани;

- для насыщения костных трансплантатов лекарственными веществами;

- с целью стерилизации;

- для регидратации лиофилизированных тканей.

Низкочастотный ультразвук относится к тем физическим факторам, которые в сочетании с другими способами позволяет добиться выраженного эффекта при отмывке губчатой костной ткани. Ультразвуковые колебания низкой частоты, воздействуя на биосистемы, вызывают кавитацию, возникновение акустических течений, микротоков и капиллярных волн.

Необходимо учитывать, что при аллопластике костей костный мозг, в отличие от костного вещества, обладает резко выраженными антигенными свойствами и вызывает иммунологический конфликт. Поэтому до консервации следует самым тщательным образом удалить из спонгиозы все структуры костного мозга, тем самым добиться максимального снижения антигенных свойств костного трансплантата.

Поскольку жировые клетки составляют половину и более объёма костного мозга, качество отмывки спонгиозы можно оценивать по остаточному содержанию жира в материале, подготовленном к пересадке.

Мы действовали на материал низкочастотным ультразвуком над пороговыми величинами, что определяется сочетанием интенсивности и времени воздействия.

Губчатая костная ткань, отмтая от жира по общепринятой технологии и с использованием низкочастотного ультразвука, а также нативный материал был изучен микроскопически. Полутонкие срезы, полученные с замороженной декальцинированной губчатой костной ткани, окрашивали Суданом IV (Рис.). Также окрашивали полутонкие срезы спонгиозы метиленовым синим после фиксации в осмии (Рис.).

Морфометрические исследования спонгиозы показали, что в нативной костной ткани жировые включения составляют около 30%, в материале, изготовленном по обычной методике, - 8,5%, а трансплантат, полученный с использованием ультразвука, жировых элементов практически не имеет. Данные представлены в Таблице

Ультразвук разрушает крупные жировые конгломераты на мелкодисперсные капли, которые намного быстрее и легче удаляются из костных структур проточной водой с использованием липосистем и химических реактивов.

В результате отмывки спонгиозы с использованием низкочастотного ультразвука нам удалось добиться максимального удаления жира, следы которого остаются только в лакунах на местах погибших остецитов. В межтрабекулярном пространстве жировые элементы полностью отсутствуют. Одновременно происходит разрушение и удаление из ГКТ клеток крови, ретикулярных и других элементов костного мозга.

В реконструктивных операциях для эффективного купирования воспалительных патологических процессов и восстановления утраченных костных структур особую актуальность приобретает возможность использования биопластических материалов с выраженной антимикробной направленностью. Создание biomaterialов, обладающих заданными антимикробными свойствами, снижает нагрузку лекарственными препаратами на организм, а с другой стороны позволяет целенаправленно действовать на инфицированную зону.

В выборе антибиотиков, приемлемых для насыщения костных тканей с помощью низкочастотного ультразвука, мы руководствовались несколькими моментами. Антибиотик должен:

- быть устойчив к фонофорезу;
- относиться к антибиотикам широкого спектра действия;
- обладать остеотропным действием;
- хорошо аккумулироваться тканевыми структурами;
- сохранять активность в растворе длительное время.

Учитывая вышеперечисленные требования, мы выбрали остеотропные антибиотики широкого спектра действия: рефлин и гентамицин.

Оценку антибактериальных свойств насыщенной антибиотиком костной ткани проводили по зонам задержки роста микрофлоры (Рис.). Цифровые данные обработаны с помощью метода вариационной статистики.

Визуальная оценка и цифровые данные торможения роста микроорганизмов вокруг трансплантатов свидетельствуют о длительном, в течение 60 суток и более, антимикробном действии костных тканей, включивших в свою структуру антибиотики. Другим важным моментом является волнообразное течение активности антибиотика, что связано с поэтапным выходом лекарственного вещества из костных структур губчатой ткани.

При многих хирургических вмешательствах требуется регидротация материалов. Однако, этот процесс при обычном замачивании занимает много времени. Для ускорения насыщения тканей водой использовали низкочастотный ультразвук.

Одной минуты озвучивания губчатой костной ткани достаточно для качественного и быстрого восстановления влажности.

Одновременно с регидротацией осуществляется дополнительная ультразвуковая стерилизация материала.

Низкочастотный ультразвук в течение 1 минуты обеспечивает полную стерильность лиофилизированных губчатых трансплантатов.

Таким образом, вышеперечисленные качества низкочастотного ультразвука позволили нам включить его в технологию производства костнопластических материалов.

Нами проведены исследования по заготовке и консервации пуповины человека. Алгоритм динамической консервации трансплантатов из пупочного канатика позволяет восстановить кровоток в сосудах малого и среднего диаметра. Пластика бедренной артерии биопротезом из вены со студнем пуповины, консервированым по предложенному способу в эксперименте позволяет восстановить сосудистую проходимость в 80% случаев.

Разработана и внедрена методика дифференцированного применения лиофилизированных костных трансплантатов из зрелой и незрелой костной ткани как средство регулирования остеогенеза. В клинике подтверждена высокая эффективность алогенной лиофилизированной губчатой ткани для заполнения костных дефектов.

Костная пластика выполнена у больных травматологоортопедического профиля при опухолях и кистах костей, остеомиелите у взрослых и детей, при замедленной консолидации костей у пожилых людей при переломе проксимального отдела бедренной кости (патент № 1076647 от 10 апреля 1997 года).

Таким образом, лиофилизированные аллоткани являются эффективным материалом восстановления поврежденных болезнями и травмами анатомических образований у людей всех возрастов, с различной патологией тканей мезенхимального происхождения.

Л.Т.Волова, Б.Б.Уваровский,
А.Г.Кириленко, В.М.Давыдов