

УДК 611-018.2:612.014.482:539

РАДИАЦИОННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ВОЛОКНИСТЫХ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ

О. Р. Шангина

Государственное учреждение Всероссийский Центр
глазной и пластической хирургии
г. Уфа

Реферат

За последние годы широкое распространение в медицинской практике получили методы лечения, основанные на трансплантации тканей. Значительную долю в хирургии тканевых пересадок занимают консервированные соединительнотканые трансплантаты. Одним из наиболее сложных этапов в производстве трансплантатов является стерилизация. Известно, что некоторые трансплантаты после стандартной гамма-стерилизации (2,5 Мрад) теряют свои пластические свойства. В то же время остаются неизученными структурные изменения биоматериалов при различных режимах и дозах радиационного воздействия.

Для исследования взят материал от 84 трупов людей обоего пола, из которого выбраны 3 вида аллотрансплантатов: сухожилия, дерма и твердая мозговая оболочка (ТМО). Для радиационной стерилизации указанных трансплантатов были выбраны гамма- и электронное облучение в дозах 1,5 и 2,5 Мрад.

Как показали наши исследования, изменения в структуре волокнистого остова соединительнотканых трансплантатов после радиационной стерилизации зависят от фиброархитектоники донорских тканей. На основе полученных данных разработана концепция устойчивости соединительнотканых структур к радиационной стерилизации. Выделено три уровня структурной стабилизации соединительнотканых биоматериалов, определена их роль при различных видах радиационной стерилизации. При сопоставлении двух видов излучения более выраженные изменения были выявлены при облучении электронами. Лучевая (гамма) стерилизация сохраняет структуру трансплантатов почти неизменной.

Ключевые слова: радиационная стерилизация, био материалы, трансплантаты.

За последние годы широкое распространение в медицинской практике получили методы лечения, основанные на пересадке тканевых трансплантатов. Значительную долю в хирургии тканевых пересадок занимают консервированные соединительнотканые трансплантаты. Так, во Всероссийском центре глазной и пластической хирургии разработаны и широко внедрены в практику трансплантаты с относительно низкими антигенными свойствами, стимулирующие направленную регенерацию волокнистой соединительной ткани и защищенные товарной маркой Аллоплант (Э. Р. Мулдашев с соавторами, 1974—2002 гг.). В настоящее время имеют государственную регистрацию и серийно производятся 73 видов указанных трансплантатов. Учитывая, что в структуре различных видов аллопланта присутствует комплекс компонентов внеклеточного матрикса соединительной ткани с разнообразным гистохимическим составом, мы относим производимые трансплантаты к категории биоматериалов.

Одним из наиболее сложных этапов в производстве биоматериалов является стерилизация. Известно, что некоторые трансплантаты после стандартной гамма-стерилизации (2,5 Мрад) теряют свои пластические свойства. В то же время остаются неизученными структурные изменения биоматериалов при различных режимах и дозах радиационного воздействия. В этой связи также представляют интерес исследования по морфологической перестройке трансплантатов с разнообразной фиброархитектоникой на фоне лучевой стерилизации. Полученные результаты, на наш взгляд, позволят прогнозировать возможные деструктивные изменения биоматериалов и выбирать адекватный режим стерилизации. Изложенные проблемы и составили цель настоящего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования взят материал от 84 трупов людей обоего пола, из которого выбраны 3 вида аллотрансплантатов: сухожилия, дерма и твердая мозговая оболочка (ТМО), обработанные в соответствии с требованиями ТУ-42-2-537-93. Для радиационной стерилизации указанных трансплантатов были выбраны гамма- и электронное облучение в дозах 1,5 и 2,5 Мрад. Данные бактериологического контроля показали эффективность лучевой стерилизации трансплантатов при всех исследуемых видах и дозах радиационного излучения. Образцы трансплантатов до и после облучения исследованы с применением комплекса гистологических методов (окраска по Ван-Гизон, поляризационная микроскопия неокрашенных срезов, растровая электронная микроскопия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сухожильный трансплантат, в структуре которого преобладают однонаправленные пучки коллагеновых волокон (рис. 1 А), подвергается выраженным структурным изменениям при всех исследованных режимах и дозах облучения. Облучение сухожильного трансплантата гамма-лучами в дозе 1,5 Мрад уже проявляется изменениями в структуре пучков I и II порядков. Внутри пучков 1 порядка происходит продольное расщепление и фрагментация до

отдельных коллагеновых волокон. Продольное расщепление становится выраженным ввиду глубокой деструкции коллагеновых волокон, оплетающих пучки 1 порядка. Дезорганизация указанной сети волокон приводит к расширению межпучковых промежутков. Аналогичные изменения происходят на уровне пучков II порядка. Здесь также наблюдается продольная фрагментация и расширение межпучковых пространств. Процессы деструкции рыхлой соединительной ткани, оплетающей пучки II порядка, приводят к продольному расщеплению пучков волокон, выявленным при сканирующей электронной микроскопии. При увеличении дозы гамма-облучения до 2,5 Мрад описанные изменения более выражены. Коллагеновые волокна оплетающей сети на уровне пучков I и II порядков подвергаются глубокой деструкции: теряется четкость контуров, волокна приобретают аморфный вид, что связано, по-видимому, с их физико-химической дезорганизацией (рис. 1 Б) (Liu B., Harrell R., Davis R. 1989).

Стерилизация сухожильного трансплантата электронным облучением также приводит к выраженным структурным изменениям его волокнистого остова. При дозе 1,5 Мрад теряются контуры пучков I порядка, они фрагментируются. Из пучков I порядка путем продольного расщепления выделяются отдельные коллагеновые волокна и их фрагменты. При дозе 2,5 Мрад происходит гомогенизация трансплантата, при этом выделить пучки I и II порядков уже не представляется возможным. Сухожильный трансплантат при этом представлен однотипными пучками волокон диаметром 2 мкм, они рыхло расположены и связаны между собой единичными деформированными коллагеновыми волокнами. Сеть волокон, оплетающих пучки, подвергается полной деструкции (рис. 1 В).

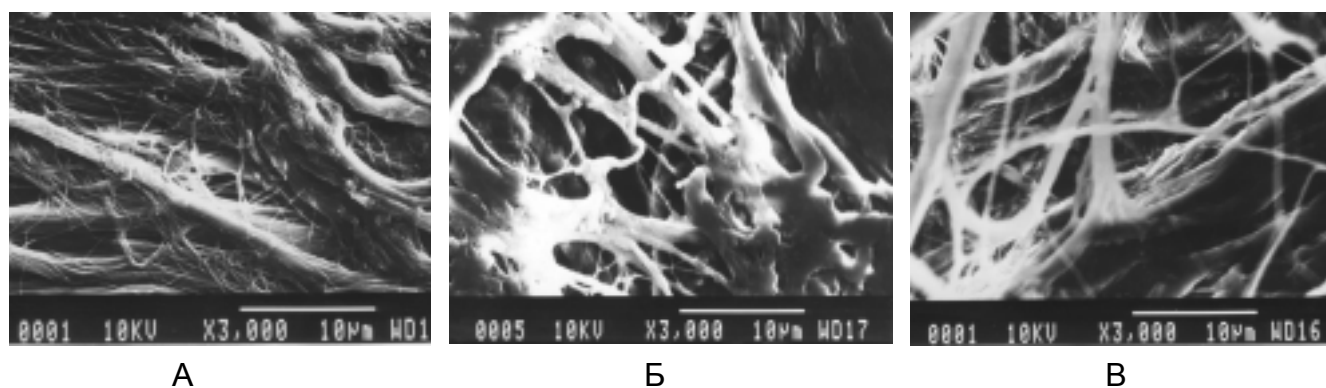


Рис. 1. Сухожильный трансплантат: А - контроль; Б – глубокая деструкция волокон после стерилизации γ -лучами, дозой 2,5 Мрад; В – полная деструкция волокон после стерилизации электронным облучением, дозой 2,5 Мрад. Сканирующая электронная микроскопия $\times 3000$.

Приведенные нами данные согласуются с результатами исследования Salehpour A., Butler D.L., Proch F.S. (1995), которые выявили деструкцию коллагеновых волокон

сухожильного трансплантата при гамма-стерилизации дозами 4, 6, 8 Мрад.

Исследование трансплантата ТМО (рис. 2 А) после радиационной стерилизации выявило более высокую его устойчивость к облучению. Так, при гамма-облучении дозами 1,5 и 2,5 Мрад структура трансплантатов в целом сохраняется (рис. 2 Б). Слабо выраженные локальные изменения в виде расщепления пучков на более мелкие структуры и отдельные волокна не приводят к изменениям общей фиброархитектоники описываемого трансплантата.

Электронное облучение дозой в 1,5 Мрад также не приводит к видимым структурным изменениям трансплантата ТМО. Однако увеличение дозы до 2,5 Мрад приводит к разрыхлению прослоек соединительной ткани между пучками волокон и расширению межпучковых пространств (рис. 2 В). Однако поляризационно-оптические исследования указывают на сохранение анизотропных свойств коллагеновых волокон.

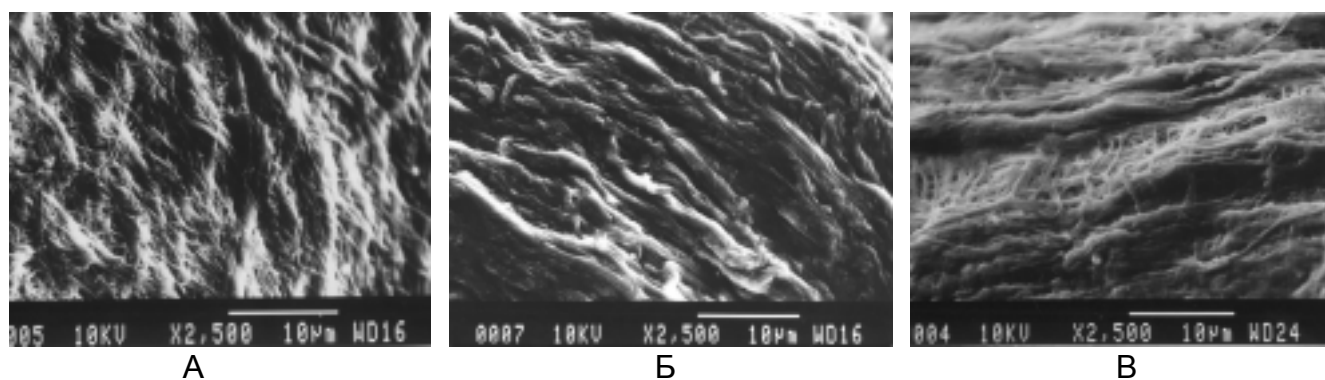


Рис. 2. Трансплантат ТМО: А – контроль; Б - стерилизованный γ -лучами, дозой 2,5 Мрад; В – стерилизованный электронным облучением дозой 2,5 Мрад. Сканирующая электронная микроскопия $\times 2500$.

Проведенные нами исследования структуры трансплантата дермы (рис. 3 А) показали, что он имеет наиболее высокую устойчивость к радиационному облучению. При гамма-стерилизации дозами 1,5 и 2,5 Мрад структура описываемого трансплантата сохраняется (рис. 3 Б). Основу дермального трансплантата составляет сложно переплетенный волокнистый остов при компактном расположении пучков. При этом отдельные пучки волокон переходят из одного слоя в другой, формируя разнонаправленную фиброархитектонику трансплантата. Пучки волокон при этом связаны между собой слаборазвитой сетью коллагеновых и эластических волокон. По-видимому, плотно расположенные и переплетенные пучки волокон трансплантата дермы позволяют удерживать его структуру даже при более жестком электронном облучении дозами 1,5 и 2,5 Мрад (рис. 3 В). Как показали наши электронно-микроскопические исследования, структура дермального трансплантата остается неизменной.

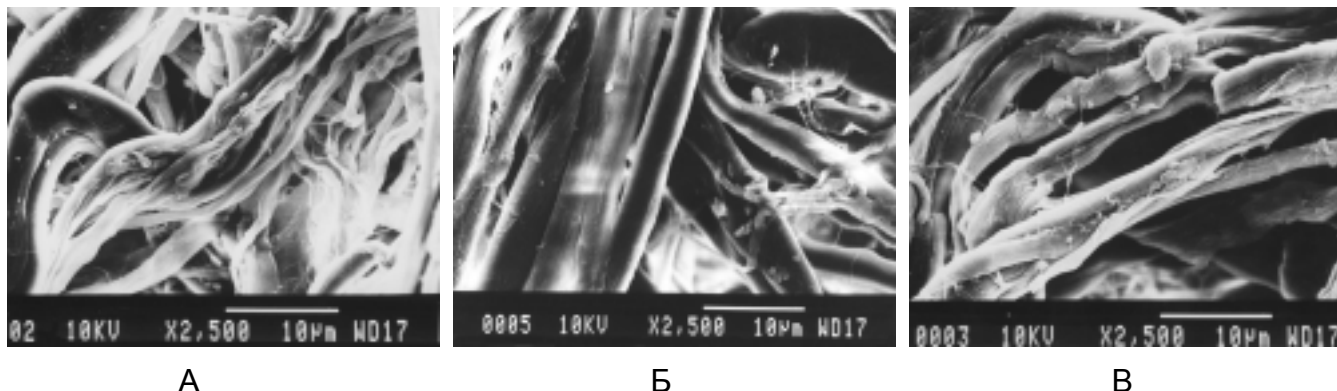


Рис. 3. Трансплантат дермы: А – контроль; Б - стерилизованный γ -лучами, дозой 2,5 Мрад; В – стерилизованный электронным облучением дозой 2,5 Мрад. Сканирующая электронная микроскопия $\times 2500$.

Полученные нами результаты морфологических исследований различных соединительнотканых трансплантатов после радиационной стерилизации позволили сформировать концепцию о радиационной устойчивости волокнистых структур. По уровням структурной стабилизации и устойчивости к радиационной стерилизации исследованные ткани распределились в следующем ряду:



Наименее устойчивым к радиационному воздействию является сухожильный трансплантат, в котором пучки I порядка, диаметром около 2 мкм, оплетаются и связываются между собой сетью коллагеновых волокон. Наличие описанной сети и сами пучки I порядка мы рассматриваем как первый уровень структурной стабилизации соединительнотканых трансплантатов (рис. 4). Пучки II порядка диаметром около 20 мкм также оплетаются подобной сетью, которая поддерживает структурную целостность пучков и связывает их между собой. Соответственно, наличие пучков II порядка с оплетающей их рыхлой сетью коллагеновых волокон мы рассматриваем как второй уровень стабилизации волокнистых структур (рис. 5). Для описываемого трансплантата сухожилия характерны два приведенных уровня стабилизации. Наши исследования показали, что описанные два уровня стабилизации в изолированном виде не обеспечивают достаточно надежную защиту трансплантата при радиационной стерилизации. Уже при облучении гамма-лучами дозой 1,5 Мрад происходит деструкция коллагеновых волокон, образующих войлокообразную сеть вокруг пучков. Фактически теряется основной фактор стабилизации для пучков волокон I и II порядков, в результате происходит их фрагментация на отдельные волокна и тонкие пучки.

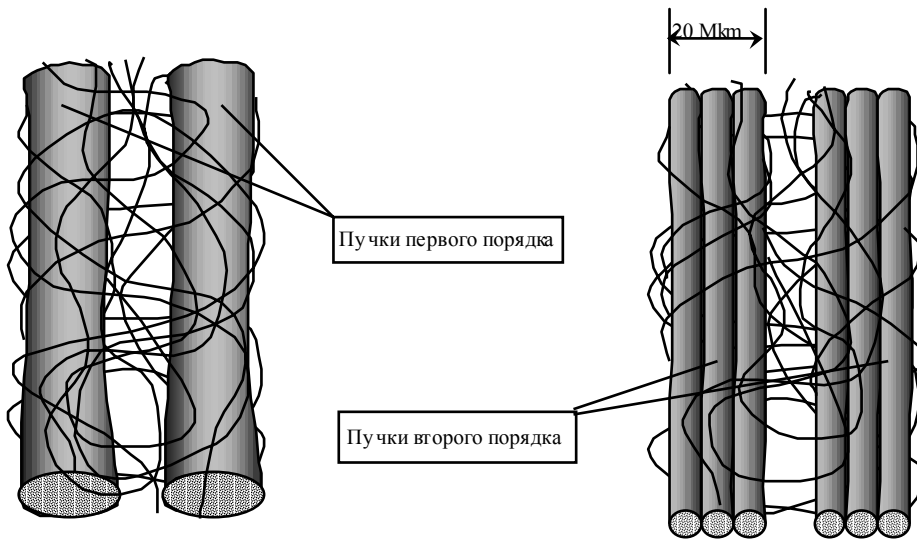


Рис. 4. Первый уровень структурной стабилизации волокнистого остова соединительнотканых трансплантатов

Рис. 5. Второй уровень структурной стабилизации волокнистого остова соединительнотканых трансплантатов

Изучение трансплантатов ТМО позволило выявить третий уровень структурной стабилизации, для которого характерен сложно переплетенный волокнистый остов, где пучки волокон имеют спиральный ход, переходя из одного слоя в другой (рис. 6). Третий уровень стабилизации обуславливает более высокую устойчивость к радиационному облучению соединительнотканых трансплантатов. Поэтому в трансплантатах ТМО выявляется слабовыраженное локальное изменение рыхлой сети коллагеновых волокон при стерилизации электронами дозой 2,5 Мрад.

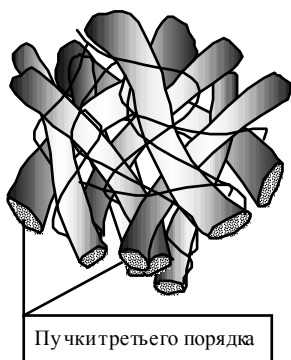


Рис. 6. Третий уровень структурной стабилизации волокнистого остова соединительнотканых трансплантатов.

В трансплантате дермы первый и второй уровни стабилизации развиты минимально. Однако пространственная организация самих пучков представлена сложно переплетенным коллагеновым каркасом, что согласуется с данными Р. А. Бикмуллина (1996).

На основании полученных данных нами составлена характеристика трансплантатов в зависимости от особенностей их волокнистого остова (см. таблицу).

**Характеристика трансплантатов в зависимости от особенностей строения
волокнутого остова**

Виды трансплантатов	Уровни стабилизации		
	I	II	III
Трансплантат сухожилия	++	++	—
Трансплантат ТМО	++	++	++
Трансплантат дермы	+	+	+++

В данной таблице приведены исследуемые трансплантаты и соответствующие уровни структурной стабилизации, оцененные по трехбалльной системе. Так, в сухожильных трансплантатах выражены лишь первые два уровня стабилизации. В трансплантатах ТМО в равной степени представлены все три уровня стабилизации, что, по-видимому, в комплексе обеспечивает достаточно надежную устойчивость к радиационному воздействию. В трансплантатах дермы первые два уровня стабилизации слабо выражены. В то же время, сложная пространственная архитектура трансплантата дермы позволяет нам оценить роль третьего уровня стабилизации. Данное сочетание всех трех уровней, при ведущей роли третьего уровня стабилизации, позволяет обеспечить трансплантатам максимальную устойчивость и сохранить их волокнустый остов при воздействии радиационной стерилизации во всех исследуемых режимах и дозах.

Полученные нами результаты и сделанные на их основе теоретические обобщения позволяют на основании изучения волокнустых структур различных соединительнотканых трансплантатов в каждом случае определять оптимальную дозу и вид радиационной стерилизации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе показано, что изменения в структуре волокнутого остова соединительнотканых трансплантатов после радиационной стерилизации зависят от фиброархитектуры донорских тканей. На основе полученных данных разработана концепция устойчивости соединительнотканых структур к радиационной стерилизации. Выделено три уровня структурной стабилизации соединительнотканых биоматериалов, определена их роль при различных видах радиационной стерилизации. Установлено, что у биоматериалов со сложным взаимно переплетенным коллагеновым каркасом различные режимы облучения в стерилизующей дозе не вызывают морфологических изменений, тогда как трансплантаты с однонаправленной ориентацией коллагеновых пучков подвергаются глубоким изменениям от продольной фрагментации пучков до деструкции отдельных коллагеновых волокон.

При сопоставлении двух видов излучения более выраженные изменения были выявлены

при облучении электронами. Лучевая (гамма) стерилизация сохраняет структуру трансплантатов почти неизменной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бикмуллин Р. А. Морфологические особенности волокнистого каркаса и органного кровеносного русла кожи стопы человека: Автореф. дис. канд. мед. наук. - Уфа., 1996. — 20 с.
2. Мулдашев Э. Р. Теоретические и прикладные аспекты создания аллот-трансплантатов серии «Аллоплант» для пластической хирургии лица //Автореф. дис. д-ра мед. наук. - Санкт-Петербург. — 1994. — С. 40.
3. Нигматуллин Р. Т., Мулдашев Э. Р., Муслимов С. А., Миниغازимов Р. С., Габбасов А. Г. Трансплантационный ангиогенез как медико-биологическая проблема //Российские морфологические ведомости: Тез докл — М — 1999. -Ns 1-2. -С. 107.
4. Liu B., Harrell ft., Daw's R. The effect of gamma irradiation on injectable human amnion collagen //Journal of Biomedical Materials Research - 1989 — V. 23. - P. 833-844.
5. SalehpourA., Butler D.L, ProchF.S., Schwartz H.E. et al. Dose-dependent response of gamma irradiation on mechanical properties and related biochemical composition of goat bone-patellar tendon-bone allografts //Orthop Res. - 1995 Nov; 13(6). P. 898-906.