

## **Концепция применения биоматериалов Alloplant**

Историю развития хирургии можно подразделить на два периода: 1) хирургия, направленная на удаление пораженного органа или участка органа (аппендэктомия, энуклеация глаза и т.п.); 2) технократическая хирургия, достижения в которой обусловлены совершенствованием и широким внедрением в практику сложной медицинской техники и аппаратуры (применение лазеров, интраокулярных линз, витреоретинальная хирургия и т.д.).

Надо отметить, что современная хирургия, вооруженная различными техническими средствами, достигла высокого уровня. Однако технические достижения не позволяют в полной мере реализовать биологический потенциал организма в виде репаративной регенерации тканей. Поэтому в практической хирургии не получили должного развития регенеративные аспекты, т.к. для хирургов нормальным результатом операции является заживление рубцовой тканью. Считается проблематичным достижение полноценной регенерации тканей во взрослом организме.

Вполне естественно, что регенеративное направление в хирургии должно стать перспективным, потому как эффективная стимуляция регенерации различных тканей может явиться основой для разработки хирургических методов, обеспечивающих полноценное структурное и функциональное восстановление органов. Развитие регенеративной хирургии создаст новые возможности в лечении тех видов патологии, которые считаются неизлечимыми.

С 1975 года в г.Уфе сформировалась научная группа, которая в порядке инициативы начала исследования по разработке биоматериалов, стимулирующих регенерацию тканей. В течение нескольких лет были созданы предпосылки для разработки основных принципов применения биоматериалов для различных операций, а также несколько видов материалов для офтальмохирургии. Экспериментальные и клинические

исследования показали, что указанные биоматериалы позволяют предупреждать развитие рубцовой ткани и стимулируют регенерацию нормальных тканей реципиента. Биоматериалы с вышеперечисленными свойствами были названы “Аллоплант”.

В 1983 году была создана экспериментальная лаборатория консервации тканей и начат выпуск биоматериалов Аллоплант для лечебных учреждений. К настоящему времени около 200 клиник Российской Федерации и стран СНГ являются потребителями биоматериалов Аллоплант.

В 1990 году приказом Министра Здравоохранения Российской Федерации был организован Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, что позволило расширить научные исследования по регенерации тканей. В течение последних лет было установлено, что различные виды биоматериалов Аллоплант могут избирательно стимулировать регенерацию плотной и рыхлой соединительной ткани, эпителия, кровеносных сосудов и такой бессосудистой ткани как роговица. Результаты этих исследований явились базисом для разработки новых биоматериалов и внедрения их в различных областях хирургии: челюстно-лицевой, абдоминальной, грудной, проктологии и т.д.

Хорошо известно, что при трансплантации различных тканей (донорской склеры, сухожилия, широкой фасции бедра и т.п.) наблюдается ряд негативных явлений, ограничивающих их применение в практической хирургии. Они обусловлены или тканевой несовместимостью (отторжение, резорбция трансплантата), или эмпирическим подбором трансплантатов, несовершенством способов обработки или консервации, что приводит к инкапсуляции трансплантата и развитию рубцовой ткани. В практике вышеперечисленные недостатки проявляются в виде таких послеоперационных осложнений, как сдавление зрительного нерва, рубцовая деформация век, деформирующие кожные рубцы и т.д.

Предварительные экспериментальные исследования показали, что пересадка тканей вызывает не только иммунную реакцию, но и стимулирует регенерацию тканей реципиента. К сожалению, в основном стимулируется развитие рубцовой ткани, но в части случаев имеет место и регенерация нормальной ткани реципиента.

Исходя из вышеизложенного, мы предположили, что при определенных условиях с помощью трансплантации тканей можно стимулировать нормальную репаративную регенерацию. Нет сомнений, что фундаментальная разработка этой проблемы может открыть в медицине новые возможности, связанные с регенерацией тканей, и перспективу полноценного восстановления пораженных органов человеческого организма.

## **Цель исследований**

Снижение антигенных свойств аллотрансплантатов и стимуляция их замещения регенерирующими тканями реципиента.

## **Материалы и методы исследований**

Исследовались материалы двух видов:

1. Секционный (различные ткани организма человека: сухожилия, фасции, кожа, подкожно-жировая клетчатка, твердая мозговая оболочка и др.) от 105 трупов.

2. Экспериментальный, включающий 176 кроликов, 60 крыс и 16 кошек, которым производилась пересадка различных тканей. Для

исследований забирался материал через 3, 5, 7, 14, 21, 30, 60, 120, 180 и 360 суток после операции.

Исследования проведены с помощью анатомических, гистологических, гистохимических и иммунологических методов. Использовались также методы поляризационной микроскопии, электронной микроскопии и гистохимии, морфометрии и фотометрии.

Краткое изложение результатов экспериментальных исследований исследования показали, что аллотрансплантация нативных тканей (склера, сухожилие) вызывает бурную иммунную реакцию на 14-21 сутки после пересадки (Рис. 1), но в более поздние сроки эта реакция снижается с постепенным формированием рубцовой ткани на месте и вокруг трансплантата. С чем же связано снижение иммунной реакции в поздние сроки после трансплантации? Электронногистохимическое исследование показало, что по мере снижения иммунной реакции происходит выход гликозаминогликанов из коллагеновых волокон трансплантата (Рис. 2).

Нами было выдвинуто предположение, что свободные гликозаминогликаны могут ингибировать иммунную реакцию. Исследования на клеточных культурах лимфоцитов подтвердили это предположение, т.к. было зафиксировано снижение миграционной способности лимфоцитов под влиянием гликозаминогликанов. Последующая серия исследований выявила принципиальную возможность получения *in vitro* трансплантатов с экстрагированными гликозаминогликанами. Этого удалось достичь путем специальной физико-химической обработки тканей, предназначенных для трансплантации (Рис. 3).

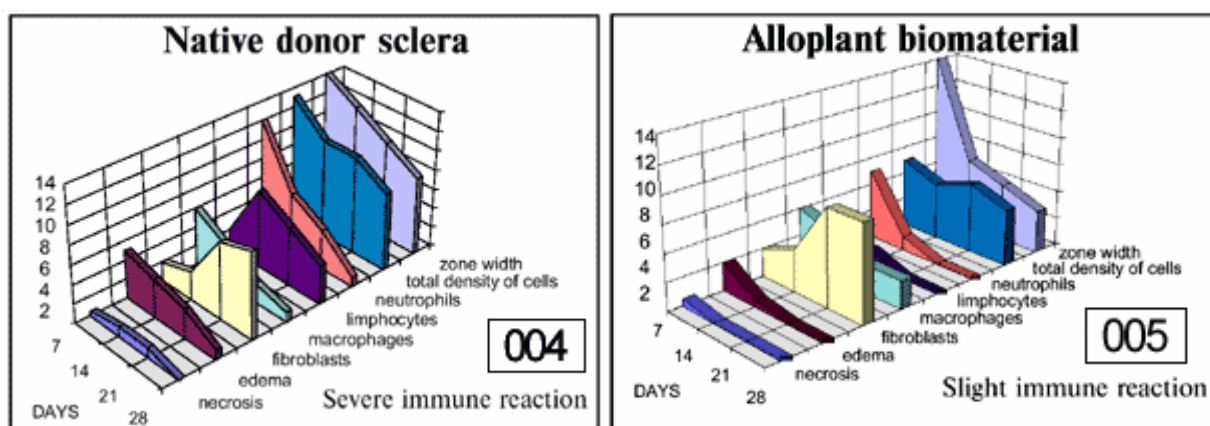
Оказалось, что для сохранения регенераторных стимулов в виде слабой иммуногенности, экстракция гликозаминогликанов должна быть дозированной, что потребовало разработки соответствующей технологии. Частью этой технологии явился также принцип подбора тканей,

заклюющийся в относительном (70%) структурном соответствии аллотрансплантата и восстанавливаемой ткани.



Аллотрансплантаты с дозированной экстракцией гликозаминогликанов и сниженными таким образом антигенными свойствами были названы "Аллоплант". Учитывая, что данная технология значительно изменяет свойства нативных тканей, представляется целесообразным считать их биоматериалами.

Сравнительное исследование тканевой реакции на нативные аллотрансплантаты и биоматериалы Аллоплант было проведено на моделях пересадки сухожилия, донорской склеры, широкой фасции бедра, висцеральной фасции, дермального слоя кожи и подкожной клетчатки. Результаты этих экспериментов были в основном идентичны. В данном обзоре эти результаты наглядно демонстрирует эксперимент на 54 кроликах с моделированием склеропластики, где в качестве трансплантатов использованы нативная донорская склера кролика (контрольная группа) и приготовленный из склеры кролика биоматериал Аллоплант (исследуемая группа). Для анализа использована методика оценки по Sewell (Рис. 4 и 5).



В обоих случаях наблюдалась определенная клеточная реакция на введенные аллотрансплантаты, однако в исследуемой группе (с биоматериалом Аллоплант) наблюдалась значительно меньшая плотность таких клеток, как лимфоциты и нейтрофилы, а также менее выраженные зоны отека и некроза. Иммуный ответ (как гуморальный, так и клеточный) был также значительно ниже в случае применения биоматериала Аллоплант.

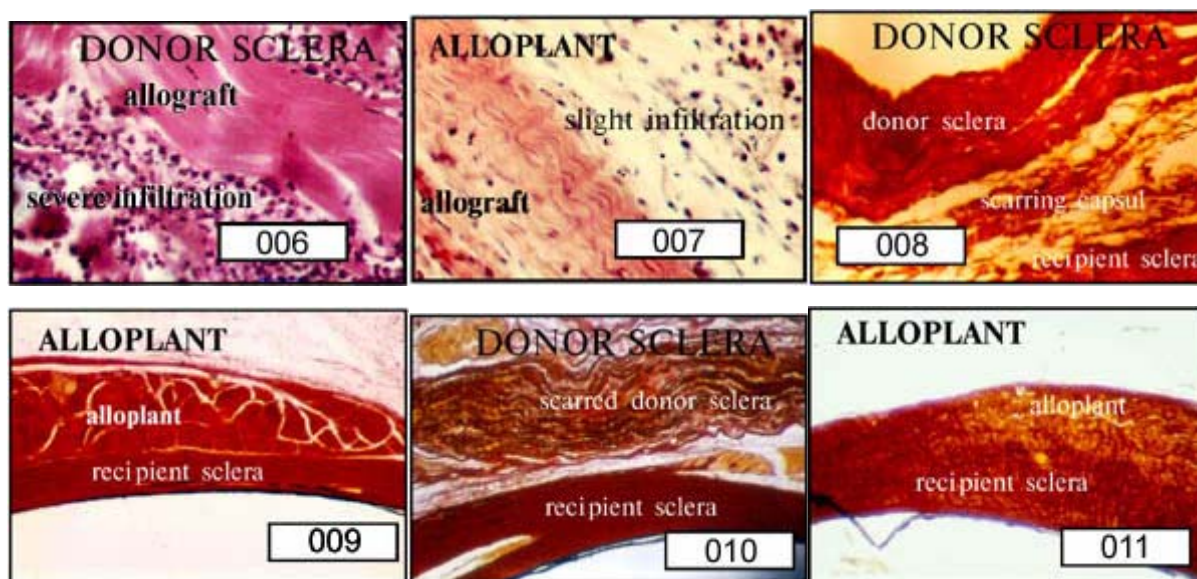
Сравнительное гистологическое исследование показало, что в ранний период после пересадки (3, 5, 7, 14, 21 сутки) донорская склера вызывает значительную воспалительную реакцию с преобладанием лимфоцитарной и лейкоцитарной инфильтрации, тогда как вокруг биоматериала Аллоплант наблюдалась слабая инфильтрация макрофагами и фибробластами (Рис. 6 и 7).

В сроки 21 и 30 суток в обоих случаях отмечалось проникновение пролиферирующих фибробластов в толщу пересаженных тканей, но в поздние сроки (120 и 180 суток) отмечалась принципиальное морфологическое различие в замещении аллотрансплантатов. Донорская склера замещалась грубоволокнистой (рубцовой) тканью с формированием вокруг трансплантата такой же рубцовой капсулы (Рис. 8), а замещение биоматериала Аллоплант происходило путем его постепенной резорбции и новообразования коллагеновых волокон с упорядоченной ориентацией (Рис. 9). Ни в одном случае не было отмечено признаков рубцевания.

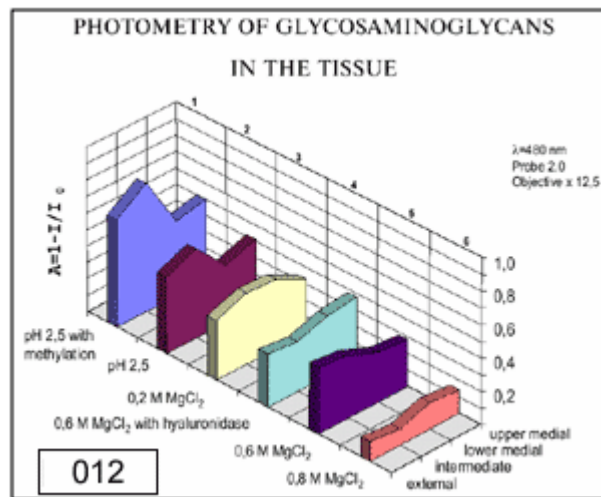
В отдаленные сроки (360 суток) на месте пересадки донорской склеры была сформирована грубоволокнистая ткань с признаками рубцовой деформации (Рис. 10), резко отличающуюся новообразованную ткань от окружающей склеры реципиента. В этот же срок биоматериал Аллоплант был полностью замещен плотной оформленной соединительной тканью, по структуре подобной склере реципиента (Рис. 11).

Таким образом, при экспериментальной склеропластике биоматериал Аллоплант вызывал слабую иммунную реакцию и постепенно замещался новообразованной тканью, подобной окружающей склере реципиента.

Схожие результаты были получены и на других экспериментальных моделях с пересадкой сухожилия, широкой фасции бедра, висцеральной фасции, дермы и жировой клетчатки. Полученные результаты позволяют утверждать, что биоматериалы Аллоплант (трансплантаты с дозированной экстракцией гликозаминогликанов и определенной фиброархитектоникой) после пересадки вызывают слабую иммунную реакцию и постепенно замещаются дифференцированной тканью (регенератом), по структуре малоотличающейся от тканей реципиента.



Какими видами тканей могут замещаться биоматериалы Аллоплант после пересадки? Морфологические и гистохимические исследования показали, что регенерат по своей структуре может иметь несколько вариантов в зависимости от гистохимического состава применяемых биоматериалов Аллоплант (Рис.12). На экспериментальных моделях нам удалось проследить формирование пяти видов регенератов: рыхлого, плотного, эпителиального, сосудистого и роговичного. Указанные варианты формирования регенерата можно продемонстрировать на следующих примерах.



Формирование плотного соединительнотканного регенерата происходило при использовании биоматериала Аллоплант с преимущественным содержанием гиалуроновой кислоты (Рис. 13). Такой вид регенерата предпочтителен для операций по восстановлению каркаса век, склеропластики и т.п.

Если же в составе применяемого биоматериала определялось низкое содержание гиалуроновой кислоты, формировался регенерат с рыхлым расположением коллагеновых волокон (Рис. 14). Указанный вид регенерата адекватен для хирургического восстановления дефектов жировой клетчатки (контурная пластика лица, восстановление объема орбитальной клетчатки и т.д.).

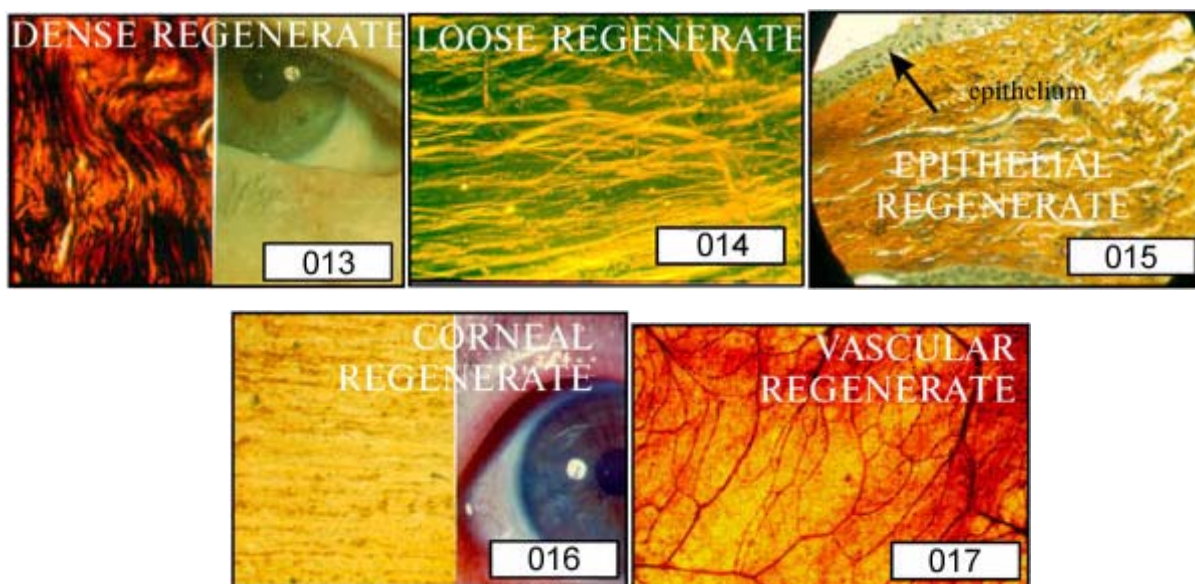
Пересадка биоматериала Аллоплант с высоким содержанием гепарансульфата приводило к быстрой его эпителизации (Рис. 15). Указанная закономерность является основой для разработки биоматериалов для восстановления эпителиальных покровов (пластики конъюнктивы, кожи и т.д.).

Высокое содержание кератансульфата является определяющим для формирования регенерата при кератопластике. В эксперименте на месте резорбирующегося биоматериала формировались типичные роговичные пластины со строго упорядоченной ориентацией (Рис. 16). По сути дела биоматериал замещался прозрачной регенерирующей роговицей. Описанный



феномен создает возможности применения специального биоматериала Аллоплант для лечения заболеваний роговицы.

Новые возможности открывает применение биоматериалов Аллоплант с преобладающим содержанием хондроитинсульфата. Исследования показали, что пересадка такого биоматериала приводит к его замещению обильно васкуляризованным регенератом за счет активной пролиферации эндотелия кровеносных сосудов и развития густой капиллярной сети (Рис. 17). Биоматериалы с высоким содержанием хондроитинсульфата могут найти применение для лечения ишемических поражений (сетчатка глаза, ишемическая болезнь сердца и т.д.).



Результаты проведенных экспериментальных исследований позволяют заключить, что биоматериалы Аллоплант обладают слабой иммуногенностью, стимулируют репаративную регенерацию и дифференциацию тканей. За счет различной комбинации гликозаминогликанов в составе биоматериалов появилась возможность селективной регенерации различных видов тканей и восстановления сложных анатомических структур.

Естественно предполагать, что указанные принципиальные свойства биоматериалов Аллоплант позволяют значительно расширить аспекты их применения. Например, в последние годы нами ведется разработка

диспергированных (порошкообразных) форм биоматериалов Аллоплант. Получены экспериментальные и клинические данные по регенерации гепатоцитов, что открывает возможность лечения такой тяжелой и распространенной патологии, как цирроз печени. Внедрен в клинику способ одномоментного эндоскопического лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. В челюстно-лицевой хирургии разрабатываются биоматериалы, стимулирующие регенерацию костной ткани. В глазной хирургии проходят клинические испытания биоматериалов для восстановления трабекулярной структуры путей оттока внутриглазной жидкости при глаукоме. Завершаются принципиальные разработки жидкого биоматериала Аллоплант для замещения стекловидного тела глаза.

Вышеизложенное позволяет сделать вывод о том, что создан базис для развития нового направления - регенеративной хирургии с использованием биоматериалов. Углубление указанных исследований позволит сделать новый шаг в лечении многих заболеваний и расширить контингент курабельных пациентов.