

Учредитель: Частное издательское унитарное предприятие **ЮпокомИнфоМед**

Издается в Республике Беларусь с 1995 г.

Входит в перечень изданий, рекомендованных ВАК РБ для публикации диссертационных исследований

Редакционная коллегия**Председатель**
ВАЛЬЧУК Э. А.**Главный редактор**
ШАРАБЧИЕВ Ю. Т.**Редакционный совет**

АБАЕВ Ю.К. (Минск)
АБЕЛЬСКАЯ И.С. (Минск)
АДАСКЕВИЧ В.П. (Витебск)
БАХШАЛИЕВ А.Б. (Баку)
БЕЛЯЕВА Л.М. (Минск)
БОЛБАТОВСКИЙ Г.Н. (Минск)
ВИЛЬЧУК К.У. (Минск)
ГУРЕВИЧ Г.Л. (Минск)
ДЕЙКАЛО В.П. (Витебск)
ДЕРКАЧ Ю.Н. (Витебск)
ЖИДКОВ С.А. (Минск)
ЖИЛИН А.Д. (Могилев)
КАРПЕНКО Ф.Н. (Минск)
КАРПОВ И.А. (Минск)
КОРОТКЕВИЧ Е.А. (Минск)
ЛЫЗИКОВ А.Н. (Гомель)
МАЛЫШКО С.С. (Минск)
ПИНЕВИЧ Д.Л. (Минск)
ПОТАПНЕВ М.П. (Минск)
РОЖКО А.В. (Гомель)
РУММО О.О. (Минск)
СИДОРОВИЧ Р.Р. (Минск)
СИЛИВОНЧИК Н.Н. (Минск)
СИРЕНКО В.И. (Минск)
СМЕЯНОВИЧ А.Ф. (Минск)
СЫЧИК С.И. (Минск)
ТАНИН А.Л. (Минск)
ФИЛОНОВ В.П. (Минск)
ШИШКО Г.А. (Минск)
ШРУБОВ В.И. (Могилев)
ЩАСТНЫЙ А.Т. (Витебск)

АЛЕЙНИКОВА О.В., БОВА А.А., ВАСИЛЕВСКИЙ И.В., ГАРЕЛИК П.В., ГЕРАСИМЕНКО М.А., ДОСТА Н.И., КАПЛЯ М.Н. (отв. секретарь), ЛИХАЧЁВ С.А., МИХАЙЛОВ А.Н., МОХОРТ Т.В., МРОЧЕК А.Г., НЕЧИПУРЕНКО Н.И., ПАНКРАТОВ В.Г., ПЕРЕСАДА О.А., ПОЛЯНСКИЙ Ю.П., ПОНОМАРЁВ В.В., СМЕРНОВА Л.А., СМЫЧЁК В.Б., СНЕЖИЦКИЙ В.А., СОРОКА Н.Ф., СУДЖАЕВА О.А., ТИТОВ Л.П., ТРИСВЕТОВА Е.Л., ХОЛОДОВА Е.А., ЧУДАКОВ О.П.

**СВЕРЯЙТЕ ПРАКТИКУ С НАУКОЙ –
ВЫПИСЫВАЙТЕ И ЧИТАЙТЕ**

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

**МЕДИЦИНСКИЕ
НОВОСТИ**

Издается в Минске с 1995 г.
Периодичность – 1 раз в месяц

Уважаемые коллеги!

Двадцать четыре года «Медицинские новости» вместе с Вами во имя здоровья людей!

НАШИ АВТОРЫ – это светила медицинской науки, талантливые молодые ученые и передовые практики.

НАШИ ЧИТАТЕЛИ – это успешно практикующие врачи, прогрессивные руководители здравоохранения, творчески мыслящие деятели науки, жаждущие современных знаний студенты, руководящий состав среднего звена медицинских работников.

НАШИ ПУБЛИКАЦИИ – имеют высокую читаемость и цитируемость благодаря размещению на высокопосещаемом сайте www.mednovosti.by (более 320 000 посещений из 114 стран), в электронных библиотеках eLIBRARY.ru (цитируемость – 7032, индекс Хирша – 12, impact factor – 0,237, число просмотров статей в 2017 г. – 12 829) и КиберЛенинка (просмотр статей – 146 841, копирование статей – 46 628), тщательному отбору статей и рецензированию.

НАШИ ЦЕЛИ – продвижение новых идей, технологий и знаний, повышение квалификации медицинских работников.

Подписка на журнал «Медицинские новости» – помесечная, поквартальная, полугодовая – в отделениях Белпочты и Белсоюзпечати в Беларуси, а также в России, Украине, Литве, Молдове, Болгарии, Германии.

На электронную версию журнала можно подписаться в любой стране мира на нашем сайте.

74 954
ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС

**ВЫ ЧИТАЕТЕ «МЕДИЦИНСКИЕ НОВОСТИ» –
ЗНАЧИТ, ВЫ НА ШАГ ВПЕРЕДИ!**

Вся полезная информация – на сайте www.mednovosti.by

Постимплантационные преобразования ксеноперикардимальных биопротезов, модифицированных эпоксидной смолой

Дроздовский К.В.¹, Гайдаш А.А.¹, Крутько В.К.², Мусская О.Н.², Кулак А.И.², Пашкевич Л.А.³, Линник Ю.И.¹, Казбанов В.В.¹, Гуринович Т.А.¹, Барсумян А.К.¹, Скроцкая К.В.⁴

¹Республиканский научно-практический центр детской хирургии, Минск, Беларусь

²Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

³Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Беларусь

⁴Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь

Drozdzowski K.V.¹, Gaidash A.A.¹, Krut'ko V.K.², Muskaya O.N.², Kulak A.I.², Pashkevich L.A.³, Linnik Yu.I.¹, Kazbanov V.V.¹, Gurinovich T.A.¹, Barsumyan A.K.¹, Skrotskaya K.V.⁴

¹Republican Research and Practical Center for Pediatric Surgery, Minsk, Belarus

²Institute of General and Inorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

³Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Belarus

⁴Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus

Postimplantation transformations of xenopericardial bioprostheses modified with epoxy resin

Резюме. Изучены постимплантационные преобразования структуры и физико-химических свойств ксеноперикардимальных биопротезов «Биокард», биопсированных у пациентов детского возраста, при повторной хирургической коррекции врожденных пороков сердца и крупных кровеносных сосудов. В исходных ксеноперикардимальных биопротезах обнаружены пропитанные эпоксидными массами фибриллы, хрупкие микропереломы, склеивания коллагеновых волокон и широкопористая трансформация интерстициальных мембран. В эпителиоцитах мезотелиальной выстилки выявлены разрушения микроворсинок цитоплазматических мембран и дезорганизация структуры межклеточных контактов. В имплантированных образцах ксеноперикардимальных биопротезов найдено диффузное отложение фосфатов кальция с образованием агрегатов со структурой, идентичной гидроксиапатиту. В мезотелиальной выстилке — множественные эрозии и апоптотическая деструкция эпителиоцитов, очаги пролиферации и гипертрофическое разрастание неоинтимы. Значительная часть волокон коллагенового каркаса, модифицированного эпоксидной смолой, находится в состоянии лизиса. Утилизация ксеноперикарда происходит с участием макрофагов и тканевых протеаз. В наружной пластинке «Биокарда» формируются трабекулярная костная ткань и перикардально-средостенные фиброзные коммиссуры.

Ключевые слова: ксеноперикард, эпоксидная смола, коллагеновые волокна, аморфизированный гидроксиапатит, костная ткань.

Медицинские новости. — 2019. — №3. — С. 68–73.

Summary. Postimplantation transformations of the structure and physico-chemical properties of xenopericardial bioprosthesis «Biocard», biopsied from children at re-surgical correction of congenital heart defects and large blood vessels, have been studied. In the initial xenopericardial bioprostheses, fibrils impregnated with epoxide masses, fragile micro-fractures, adhesion of collagen fibers, and wide-porous transformation of interstitial membranes were found. In the epitheliocytes of the mesothelial lining, the destruction of microvilli of cytoplasmic membranes and the disorganization of the structure of intercellular contacts were revealed. In the implanted samples of xenopericardial bioprostheses, a diffuse deposition of calcium phosphates was detected with the formation of aggregates having the structure identical to the hydroxyapatite. In the mesothelial lining, multiple erosions and apoptotic destruction of epithelial cells, foci of proliferation and hypertrophic neointimal growth were found. A significant portion of the collagen carcass fibers modified with epoxy resin is in the state of lysis. The utilization of xenopericardium occurs with the participation of macrophages and tissue proteases. In the external plate of «Biocard» trabecular bone tissue and pericardial-mediastinal fibrous commissures are formed.

Keywords: xenopericardium, epoxy resin, collagen fibers, amorphized hydroxyapatite, bone tissue.

Meditsinskie novosti. — 2019. — N3. — P. 68–73.

Ксеноперикардимальные биопротезы используются более 30 лет при хирургической коррекции пороков сердца и крупных кровеносных сосудов в связи с доступностью исходного материала (перикард крупного рогатого скота) и проверенным контролем его биосовместимости [1, 2, 5, 6]. Основные мотивы модификации ксеноперикарда эпоксидными смолами сводятся к упрочнению материала и снижению рисков, обусловленных механическими деформациями (прежде всего растяжение) имплантатов с образованием псевдоаневризмов. В странах СНГ разработаны

и внедрены в практику кардиохирургии имплантаты на основе бычьего перикарда, модифицированные эпоксидными смолами, в частности, диглицидиловым эфиром этиленгликоля [3, 4]. В Республике Беларусь разработан и внедрен в практическое здравоохранение ксеноперикардимальный биопротез «Биокард», с использованием которого в течение 2000–2017 гг. выполнено 327 первичных операций в детской кардиохирургии. В большинстве случаев «Биокард» используется для пластики дефектов, расширения структур сердца либо воссоздания участка магистральных сосудов

у новорожденных пациентов и более старшего возраста. Наиболее часто материал применяется при дефектах межпредсердной и межжелудочковой перегородки, в тетраде Фалло, транспозиции магистральных сосудов, гипоплазии дуги аорты, а также для пластики ветвей легочной артерии. Анализ отдаленных результатов свидетельствует, что в ряде случаев применение пластического материала требует проведения повторных операций с заменой ксеноперикардимального биопротеза. Время нахождения первичного имплантата в пациентах составило до 7 лет. Общее количество

реопераций за период 2000–2017 гг. – 27, а наибольшее количество составили пациенты с гипоплазией дуги аорты, которым повторное оперативное вмешательство требовалось в каждом третьем случае.

Основной причиной возникновения необходимости проведения повторных операций является стеноз в месте имплантации «Биокарда». Сужение просвета аорты либо выходного тракта правого желудочка обусловлено опережающим ростом размеров сердца и сосудов при естественном развитии ребенка в сопоставлении ригидным свойствам ксеноперикардального биопротеза, а также отсутствием растяжения материала в зоне формирования анастомозов из-за применения нерассасывающегося шовного материала. К другой причине, которая может снизить долговечность имплантатов, относят наличие регургитации и турбулентных токов крови в полых зонах, стенка которых сформирована ксеноперикардальной заплатой. Постоянное воздействие гидродинамических факторов на «Биокард» приводит к изменению его нативных свойств, преобразованию и нарушению цельности стенки.

Остаются не ясными механизмы модифицирующего воздействия эпоксидной смолы на структуру фибрилл коллагенового каркаса ксеноперикарда. Не найдено сведений о химическом составе и структурных формах кальций-фосфатов, осаждающихся в интерстиции ксеноперикардальных имплантатов. Серьезной проблемой, снижающей долговечность имплантатов, является избыточное разрастание эндотелиальной выстилки ксеноперикардальных имплантатов, природа которой остается неизвестной. Нерешенность перечисленных проблем снижает долговечность ксеноперикардальных имплантатов и затрудняет адаптацию в реабилитационном периоде, приводя к различным осложнениям.

Цель исследования – изучить структурно-функциональные преобразования ксеноперикардальных имплантатов, модифицированных эпоксидной смолой и внедренных в сердце и крупные кровеносные сосуды при хирургической коррекции врожденных пороков.

Материалы и методы

Изучены операционные биоптаты ксеноперикардальных имплантатов, модифицированных эпоксидной смо-

лой и внедренных в выходной тракт правого желудочка, париетальный листок перикарда, дефект межпредсердной перегородки, в стенку легочной артерии. Все биоптаты получены в ходе повторных оперативных вмешательств. Дополнительные исследования выполнены на основе информированного согласия законных представителей несовершеннолетних пациентов, согласованы с этическим комитетом РНПЦ детской хирургии, а их результаты способствовали уточнению диагнозов. Образцы распределены в следующие группы: 1) нативные образцы ксеноперикарда крупного рогатого скота, обработанного диглицидиловым эфиром этиленгликоля (биопротез «Биокард»), 2) операционные трансплантаты, биопсированные у 12 пациентов в ходе повторных кардиохирургических вмешательств. Извлеченные биоптаты – это блоки, состоящие из преобразованных ксеноперикардальных биопротезов «Биокард» и прилежащих тканей. Образцы отмывали в изотоническом водном растворе 0,9% NaCl и разделяли на группы, предназначенные для морфологических и физико-химических исследований.

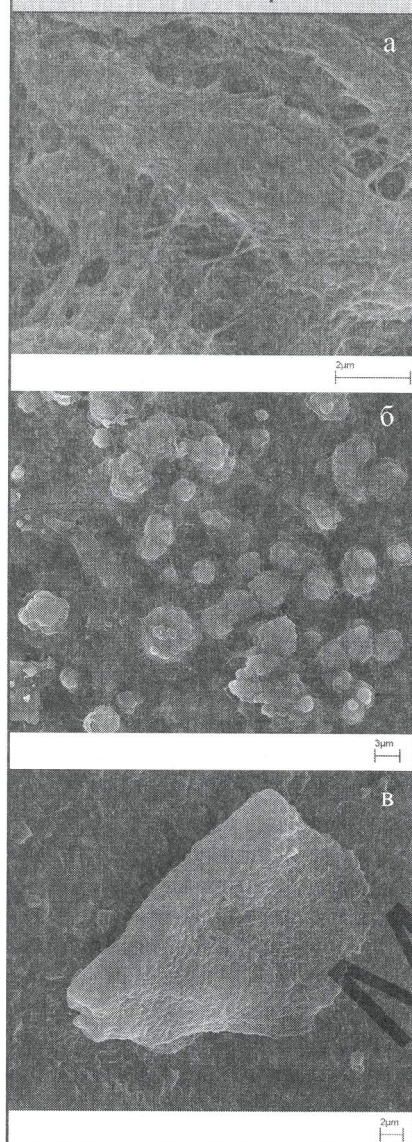
Гистологические исследования проведены на срезах толщиной 3–5 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином, а также по Ван Гизону в стандартизованных условиях. Это позволило нивелировать цветовые погрешности при определении локальной «кислотности» на основе тинкториальных свойств гистологических препаратов по колориметрической системе CMYK (Cyan, Magenta, Yellow, Key color). Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) тканевые блоки фиксировали в 3,0% глутаровом альдегиде, приготовленном в 0,1 М-фосфатном буфере, обезжизняли в этанолах восходящей концентрации и напыляли золотом на установке Emitech K550X (Англия). СЭМ-исследования выполнены на микроскопе LEO 1420. Локальный элементный состав определен с помощью рентгенфлюоресцентного анализа (EDAX) на приставке Rontec (Германия) с использованием образцов, фиксированных в 1,5% глутаровом альдегиде, раствор которого приготовлен на деионизованной воде для предотвращения примесного заноса из фосфатного буфера фиксирующей жидкости. Рентгендифрактометрию проводили на образцах, высушенных на воздухе, на дифрактометре ADVANCE D8 (Bruker, Германия) при $Cu_{K\alpha}$ = 1,5405 Å. В

качестве эталона сравнения при определении фосфатов кальция использовали порошок синтетического гидроксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, высушенного при 60 °C, максимально приближенного по рентгендифрактометрическим характеристикам к биоапатиту костной ткани [8, 10, 11]. Дифференциально-термический анализ проводили на совмещенном термическом анализаторе NETZSCH STA 409 PC LUXX (Германия) при скорости нагрева 10,0 °C/мин. на воздухе (масса навески составила около 50 мг).

Микроструктура исходных образцов ксеноперикардов, обработанных эпоксидной смолой, биопротез «Биокард»

По данным СЭМ, в коллагеновом каркасе образцов «Биокарда» обнаружен комплекс деформационных структур в виде склеенных коллагеновых волокон с морфологическими признаками хрупкого разрушения, пленка, состоящая из пластических масс на поверхности коллагеновых фибрилл, разрывы фибриллярной матрицы перикардов. Склеенные коллагеновые волокна представляют собой слипшиеся истонченные фибриллы. При этом образуется большое количество плотных и бесструктурных фибриллярных конгломератов диаметром до 30–40 мкм. Склеенные микроволокна сжаты и отстоят от более широких коллагеновых шнуров. Основная часть волокон с подобными изменениями располагается в наружной волокнистой пластинке фибриллярной части ксеноперикарда. Вследствие сжатия и разрывов коллагеновых микрофибрилл в среднем слое ксеноперикарда выявлены патологически расширенные интерстициальные щели (широкопористая трансформация). Важной структурной особенностью являются разрывы интерстициальных мембран. В нативных образцах ксеноперикарда «Биокард» интерстициальные мембраны располагаются преимущественно перпендикулярно по отношению к длинным осям коллагеновых нитей, упорядоченно повторяя их ход. По данным СЭМ, интерстициальные мембраны представляют собой плотно упакованные перфорированные пластинки толщиной 150–300 нм. Диаметр мембранных отверстий варьируется в пределах 1–2 мкм. Очевидно, что описанная организация каналов в межклеточном веществе, включающая систему поперечных интерстициальных мембран, упорядочивает циркуляцию тканевой

Рисунок 1 СЭМ-изображения: а – мезотелиальная выстилка биопротеза с отложениями пластических масс; б – растрескивания эпителиоцитов мезотелиальной выстилки трансплантата; в – разрастания эпителиоцита мезотелиальной выстилки трансплантата



жидкости и регулирует интенсивность и направленность не только гидродинамических потоков, но и миграцию клеток в глубокие слои перикарда. В нативных образцах «Биокарда» интерстициальные мембраны представлены пластинками с дезинтегрированными коллагеновыми нитями. При этом отмечается резкое расширение мембранных отверстий, диаметр которых может достигать 5–7 мкм. Такие трансформации пористых структур интерстициальных мембран дезорганизуют передвижение клеток по межклеточным каналам, делают хаотичным проникновение, в част-

ности, клеточных прекурсоров различной степени зрелости и направленности дифференцировки в участки функционального и структурного напряжения перикарда. Это сдерживает адаптивные возможности тканевых модификаций в экстремальных условиях. Однако при взаимодействии трансплантата с тканевым окружением реципиента происходит ограничение проникновения иммун-оцитов в глубинные слои перикарда, что оказывает положительное воздействие, снижая вероятность и интенсивность локальных иммунных конфликтов. Важным обстоятельством является разволокнение фибрилл коллагенового каркаса. Прежде всего, разволокнению подвергаются относительно толстые (диаметром 5–7 мкм) коллагеновые волокна, собранные в так называемые шнуры. В анатомическом отношении шнуры представляют собой компактные коллагеновые нити, толщина каждой из которых не превышает 1 мкм. Шнуры, подвергшиеся хаотичной дезорганизации, распадаются на обрывки коллагеновых фибрилл. Значительная часть слипшихся коллагеновых волокон разламывается на остроконечные фрагменты, что сопровождается скручиванием и множественными микроразрывами отдельных нитей. Такого рода деформация свидетельствует о разрушении коллагеновых волокон преимущественно по механизму хрупкого распада, обусловленного налипанием слоев эпоксидной смолы. На поверхности эндотелиальной выстилки ксеноперикардов обнаружены отложения в виде пленок, покрывающих достаточно протяженные участки. Кроме того, на поверхности эндотелиоцитов выявлены сетчатые наложения (рис. 1а), происхождение которых не ясно. Возможно, что это уплотненные эпоксидной смолой поверхностные структуры клеток: гликокаликс, нити фибрина, липопротеиды и различные метаболиты трансмембранного массообмена.

Постимплантационные структурные преобразования ксеноперикардальных протезов

По сравнению с нативным ксеноперикардом «Биокард» постимплантационные протезы имеют более сложную структуру, образованную 5–6 слоями. Висцеральная (обращенная к кровотоку) поверхность трансплантата покрыта мезотелиальной выстилкой, которая местами отслоена, а эпителиоциты подвергаются полиморфным

модификациям. Прежде всего, это касается наружной поверхности мезотелиальных эпителиоцитов: она шероховата, микроворсинки на основном протяжении сморщенной цитолеммы отсутствуют, линии боковых границ клеток деформированы. Межклеточные контакты и мембранные поры мезотелиальной выстилки расширены, количество десмосом уменьшено, тонофиламенты утолщены, местами разорваны и пронизаны проросшими коллагеновыми фибриллами, упакованными в тонкие пластинчатые структуры. В тех участках трансплантата, где сохраняется мезотелиальная пластинка биопротеза «Биокард», поверхность эндотелиоцитов, наоборот, разглажена и покрыта плотными пластическими массами.

В очагах отслоения мезотелиальная выстилка трансплантата пузырится, эпителиоциты десквамированы и подвергаются дистрофическим и некротическим преобразованиям. К поверхности эпителиоцитов плотно припаяны частицы, схожие с эпоксидными и ориентированные преимущественно над ядерной областью. Цитоплазма таких эпителиоцитов диспергирована на множественные трещины с уплотненными и гомогенизированными стенками. Трещины ориентированы в поперечном направлении и простираются от окооядерной области к периферическим отделам клеток. Растрескивание цитоплазмы свидетельствует о хрупком механизме разрушения эпителиоцитов, возможно, обусловленное кальцификацией и пропитыванием эпоксидной смолой. Не исключено, что этому предшествует пироптоз – особая разновидность апоптоза, при которой происходит скачкообразный выброс в межклеточное пространство вещества цитоплазмы гбнущей клетки (рис. 1б). Этому явно способствует упорядоченная структура цитоплазматических трещин. Не менее важны и очаговые разрастания эпителиоцитов в форме лепестков (рис. 1в). Это тонкие пластинчатые цитоплазматические выросты с узким основанием, не прочно связанные с подлежащим эндотелиальным слоем, за счет чего легко отрываются и свободно флотируют. По данным EDAX, в интерстиции лепестков концентрируется кальций. Прогрессирующее накопление кальция, по-видимому, и провоцирует гиперпластический отклик эндотелия, направленный на удаление избытков тканевого кальция путем отторжения излишних клеточных масс.

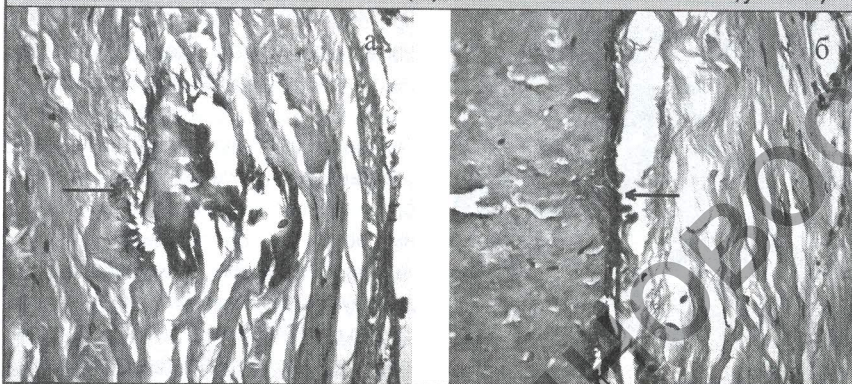
Рисунок 2 Фиброзные выросты неоинтимы на висцеральной поверхности трансплантата (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$)



Рисунок 3 СЭМ-изображение гипертрофии неоинтимы и фиброзного выроста на висцеральной поверхности трансплантата



Рисунок 4 Кальцификаты: а — в коллагеновом каркасе «Биокарда» (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$); б — на границе слоя, модифицированных коллагеновых волокон и переходного слоя (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$)



Субинтимальный слой резко утолщен, главным образом за счет разрастания коллагеновых волокон (сформировавшаяся неоинтима), выраженного интерстициального отека и паретического расширения новообразованных кровеносных и лимфатических микрососудов (рис. 2). При этом значительная часть волокон коллагенового каркаса находится в состоянии щелочного лизиса. В висцеральном направлении неоинтима образует крупные фиброзные выросты (рис. 3), частично покрытые мезотелием. Выросты плотные, с уменьшенным количеством интерстициальных фибробластов, посредством склерозированных тромботических наложений. Периферические участки спаяны с подлежащей мезотелиальной выстилкой. Стенка неоинтимальных выростов толстая, режется с трудом, издавая хруст, характерный для кальцинированной ткани. Макроскопически неоинтимальные выросты образуют клапанноподобные структуры с широкими основаниями, склонные к

хрупкому перелому. В эпикардиальном направлении утолщенная неоинтима граничит с остатками модифицированного ксеноперикарда. Механические и физико-химические свойства граничащих слоев явно различаются. На это указывают множественные отслоения неоинтимы, волокна которой не проникают вглубь остатков ксеноперикардиального пласта.

В гистологических препаратах ткань ксеноперикарда резко базофильная, что свидетельствует о закислении межклеточного вещества и его фибриллярного компонента. Основная часть коллагеновых волокон ксеноперикарда гомогенизирована, фибриллярный каркас на большом протяжении дезорганизован, интерстициальных фибробластов практически нет. Деформационные структуры выявляются электронно-микроскопически в коллагеновом каркасе остатков ксеноперикарда, аналогичные таковым в исходных образцах «Биокарда», обработанных эпоксидной смолой. Это склеивание, огрубление волокон и

пропитывание микрофибрилл пластиковыми массами, разрушение поперечных интерстициальных мембран и расширение интерстициальных щелей.

Граница между остатками ксеноперикарда и наружной фиброзной пластинкой трансплантата менее резкая, образована переходным слоем с рыхлым волокнистым каркасом. Наружная пластинка трансплантата — это типичная фиброзная ткань, образующая толстые, плотные перикардиально-средостенные комиссуры. В сравнении с перикардиальной пластинкой, пластифицированной эпоксидной смолой, тинкториальные свойства переходного и наружного слоев трансплантата менее базофильны, что свидетельствует о более щелочном состоянии межклеточного вещества. Численная плотность интерстициальных фибробластов в переходном слое наиболее высокая в сравнении с другими слоями трансплантатов. Сочетание данных факторов, а именно защелачивание среды и повышенная концентрация фибробластов, способствует осаждению в переходном слое частиц кальцийфосфатов и их агрегатов (рис. 4).

Отметим в связи с этим, что остатки модифицированного ксеноперикарда, как выше сказано, более кислые и содержащие меньше интерстициальных фибробластов, в меньшей мере подвергаются и кальцификации. Значительная часть фосфата кальция находится в агрегированном состоянии, ориентируясь на поверхностях интерстициальных фибробластов. Электронно-микроскопически гранулы фосфатов кальция представлены микрокристаллитами, форма которых приближается к гексагональной (рис. 5а). Кристаллиты располагаются преимущественно в интерстициальных расщелинах и растут в свободные пространства (рис. 5б). По данным EDAX, соотношение Ca/P в кристаллитах варьируется в пределах 1,32–1,68. Форма, состав и характер роста близки к гидроксипатиту, природные изомеры которого также склонны к росту в свободные объемы.

Особенности структурной эволюции и анатомическая направленность роста кальцийфосфатных преципитатов, по-видимому, определяются тканевым окружением и градиентом механического напряжения. При условии, если кальцификат растет в сторону эпикар-

Рисунок 5 СЭМ-изображения: а – кальцификатов, расположенных в интерстиции трансплантата; б – роста остеокожных кальцификатов в свободное пространство трансплантата

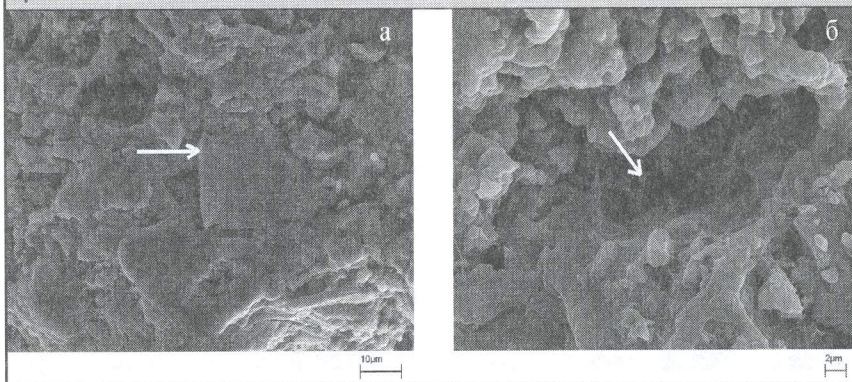


Рисунок 6 Формирование трабекулярной костной ткани на поверхности наружной пластинки трансплантата (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$)

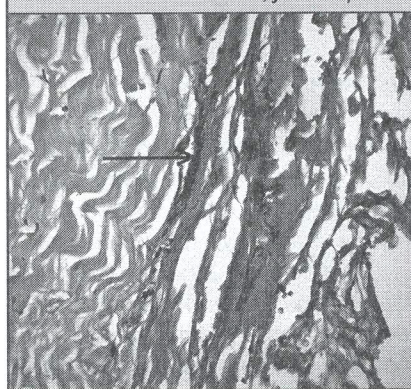
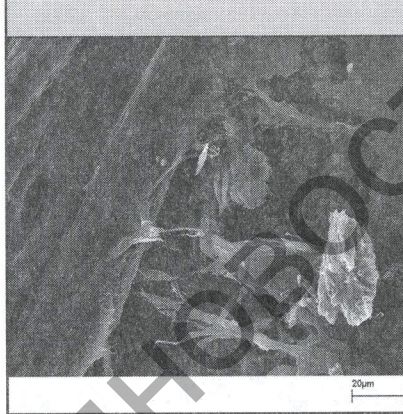


Рисунок 7 СЭМ-изображение костной трабекулы на поверхности эндотелиальной выстилки



диальной поверхности, то он прободает наружную волокнистую мембрану и на обширных свободных пространствах формирует крупные кальцификаты. Заживление дефектов происходит путем коллагенизации кальцификатов вплоть до полного слияния новообразованной тонкофибриллярной матрицы с наружной фиброзной пластинкой протеза. Выявлено, если на пути растущего кальцификата появляется участок, покрытый эндотелием, то формируются эрозии, регенерирующие путем обрастания эндотелиальными клетками с краев дефекта по механизму кроющего пласта.

Фундаментальным фактором постимплантационных преобразований ксенотрансплантатов является образование костной ткани. В большей мере это происходит на поверхности наружной фиброзной пластинки (рис. 6). Остеоидные структуры также формируются на поверхности эндотелиальных пластинок, располагающихся на мезотелиальной выстилке и в местах репаративной

регенерации эндотелия. Надэндотелиальные остеоидные структуры имеют вид вытянутых костных балок с типичными гаверсоподобными отверстиями в центре (рис. 7), окруженные игольчатыми разрастаниями, характерными для роста микрокристаллитов гидроксиапатита.

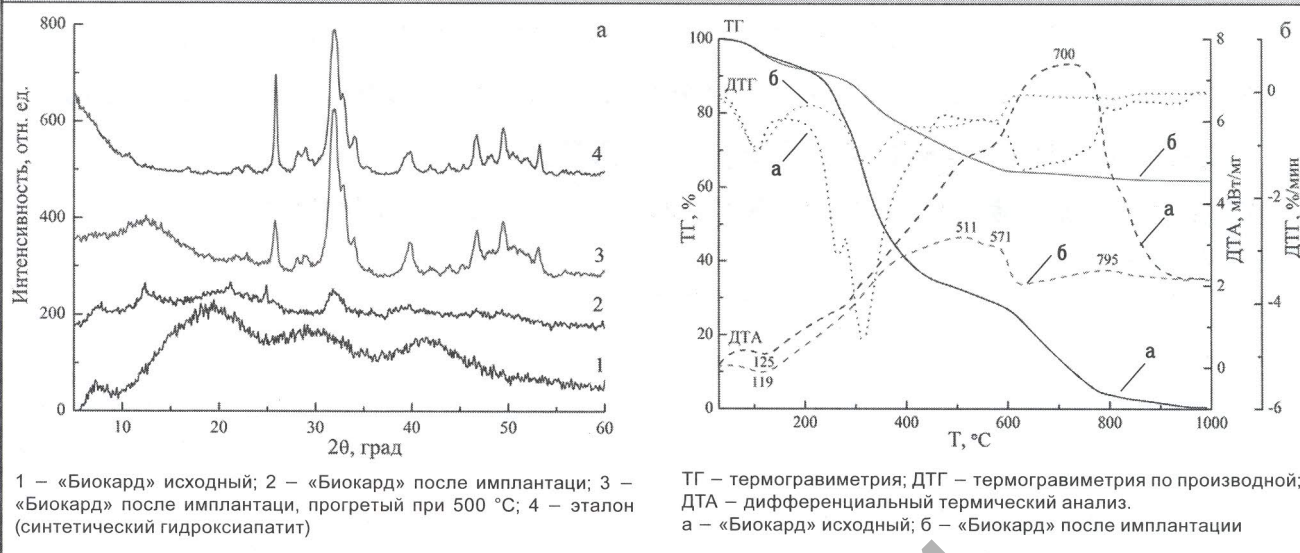
Физико-химические свойства постимплантационных перикардиальных протезов

По данным рентгендифрактометрии установлено, что в нативных образцах «Биокарда» обнаруживаются три выраженных рентгеноаморфных гало в области углов $15-25^\circ$, $25-34^\circ$ и $38-46^\circ$ (рис. 8а, кривая 1). На рентгендифрактограмме образцов «Биокарда» после имплантации появляется рентгеноаморфное гало гидроксиапатита при $31,79^\circ$ (рис. 8а, кривая 2). Для подтверждения наличия кристаллов гидроксиапатита в образцах «Биокарда» после имплантации их подвергали термообработке при 500°C в течение 5 часов для его кристаллизации. Установлено,

что после 500°C закристаллизовывается стехиометрический гидроксиапатит (рис. 8а, кривая 3), который полностью совпадает с эталонным синтетического гидроксиапатита (рис. 8а, кривая 4). Это подтверждает формирование в тканях «Биокарда» после имплантации кальцийфосфатов с апатитовой структурой в виде аморфизированного стехиометрического гидроксиапатита.

По данным дифференциально-термического анализа установлено, что деструкция образцов ксеноперикардов происходит в несколько стадий. В температурном интервале при $25-200^\circ\text{C}$ удаляется адсорбированная вода и начинаются процессы денатурации коллагена [7, 9]. При $200-480^\circ\text{C}$ происходит термический распад молекул коллагена, а в интервале температур при $480-900^\circ\text{C}$ выгорают остаточные органические фазы. В ходе термической деструкции исходные образцы «Биокарда» после термообработки до 1000°C полностью выгорают (рис. 8б, кривая а), что свидетельствует о наличии только органических фаз. В имплантированных образцах «Биокарда» в аналогичных условиях термообработки полной деструкции не происходит, а масса сухого остатка составляет 32% (рис. 8б, кривая б), что указывает на присутствие неорганической фазы гидроксиапатита и согласуется с результатами рентгендифрактометрии. Кроме того, в этих образцах наблюдается низкотемпературный сдвиг распада коллагенового белка в диапазоне $200-420^\circ\text{C}$, свидетельствующий о менее прочных связях в интерфейсе коллаген-гидроксиапатит, который может быть обусловлен структурной незрелостью новообразованных коллагеновых волокон. Обращает на себя внимание регрессия пика кривой на ДТГ в температурном диапазоне при $230-280^\circ\text{C}$ (рис. 8б), что, возможно, обусловлено уменьшением объема эпоксидной фазы, на присутствие которой в образцах исходного «Биокарда» указывает наличие соответствующего ДТГ пика при 260°C . Уменьшение объема эпоксидной фазы обусловлено активностью тканевых макрофагов. При этом отметим, что макрофаги активируются в случаях относительно непродолжительной интерпозиции трансплантатов – чаще до 2 лет и при сохраненной вилочковой железе. На более поздних

Рисунок 8 Рентгенофрактограммы (а) и дериватограммы (б) образцов «Биокарда» до и после имплантации



сроках интерпозиции трансплантатов и в условиях тотальной тимэктомии в процессы резорбции модифицированных коллагеновых волокон, по-видимому, включаются внеклеточные механизмы ферментативного лизиса.

Заключение

Вследствие обработки диглицидоловым эфиром этиленгликоля в коллагеновом каркасе бычьего перикарда развивается комплекс деформационных структур в виде пропитывания фибрилл эпоксидными массами, хрупких микропереломов, склеивания и огрубления коллагеновых волокон, а также разрушение и широкопористая трансформация интерстициальных мембран. В эпителиоцитах мезотелиальной выстилки разрушаются микроворсинки цитоплазматических мембран и дезорганизуется структура межклеточных контактов. В имплантированных образцах ксеноперикардиальных биопротезов найдено диффузное отложение фосфатов кальция с формированием крупных кальцификатов, минеральную фазу которых составляет аморфизированный стехиометрический гидроксиапатит. Интенсивность осаждения и способность к агрегации первичных преципитатов фосфатов кальция определяются физико-химическими и микромеханическими условиями окружающей тканевой среды, а также возможностью роста в свободное пространство. Именно поэтому центры преципитации фосфатов кальция локализуются в щелочной

среде, преимущественно в участках разрыхления межклеточного вещества. Мезотелиальная выстилка подвергается эрозированию и репаративной регенерации. Эпителиоциты пропитываются пластическими массами, растрескиваются и разрушаются по хрупкому механизму. Характерным является интенсивное разрастание неоинтимы со вторичной кальцификацией. Волокна коллагенового каркаса, модифицированные эпоксидными смолами, подвергаются литическому расплавлению и утилизации с участием макрофагов. В условиях тотальной тимэктомии основным механизмом резорбции модифицированных коллагеновых волокон является лизис с участием тканевых протеаз. В трансплантатах, содержащих модифицированные коллагеновые волокна, активно формируется костная ткань различной степени структурной зрелости от фиброзно-волокнутой до трабекулярной, соответственно при коротких и длительных сроках интерпозиции биопротезов. Имеется топологическая избирательность оксификации трансплантатов — в основном это происходит в местах наибольшего механического напряжения, а именно в пограничных участках разделяющихся микроанатомических структур, вдоль границ раздела плотной и жидкой фаз межклеточного вещества. Важной деформационной структурой биопротезов являются множественные перикардиально-средостенные комиссуры, подвергающиеся оксифицирующей

кальцификации. Приведенные структурные преобразования снижают долговечность ксеноперикардиальных имплантатов, модифицированных эпоксидной смолой, что требует их оптимизации и разработки новых материалов.

Работа выполнена при поддержке задания 1.04 ГПНИ «Химические технологии и материалы».

ЛИТЕРАТУРА

1. Астапов Д.А., Карасков А.М., Ким М.В. и др. // Тихоокеанский мед. журнал. — 2013. — №3. — С.41–44.
2. Чеснов Ю.М. // Здоровоохранение. — 2005. — №5. — С.5–9.
3. Чеснов Ю.М., Островский Ю.П., Скорняков В.И. и др. // Медицинские новости. — 2006. — №3. — С.137–140.
4. Чеснов Ю.М., Островский Ю.П., Скорняков В.И. и др. // Медицинская панорама. — 2005. — №3. — С.20–22.
5. Breyman T., Thies W.R., Boethig D., et al. // Eur. J. Cardiothorac Surg. — 2002. — Vol.21, N4. — P.703–710.
6. Corno A.F., Humi M., Griffin H., et al. // J. Heart Valve Dis. — 2002. — Vol.11, N2. — P.242–247.
7. De Batista T.M., Martins V.C.A., de Guzzi Plepis A.M. // J. Thermal Analysis and Calorimetry. — 2009. — Vol.95, N3. — P.945–949.
8. Krut'ko V.K., Kulak A.I., Musskaya O.N. // Inorganic Mater. — 2017. — Vol.53, N4. — P.429–436.
9. Lee J.M., Pereira C.A., Abdulla D., et al. // Med. Eng. Phys. — 1995. — Vol.17, N2. — P.115–121.
10. Musskaya O.N., Kulak A.I., Krut'ko V.K., et al. // Inorganic Mater. — 2018. — Vol.54, N2. — P.117–124.
11. Tsuber V.K., Lesnikov L.A., Kulak A.I., et al. // Pharmaceutical Chemistry J. — 2006. — Vol.40, N80. — P.455–458.

Поступила 30.07.2018 г.