МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ДЕТСКОЙ ХИРУРГИИ»

К. В. Дроздовский, Ю. И. Линник

ПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ В СОВРЕМЕННОЙ ДЕТСКОЙ КАРДИОХИРУРГИИ

Под редакцией К. В. Дроздовского

Минск

«Беловагрупп»

2016

УДК 615.462:616.1.-089-053.2

Дроздовский, К. В. Пластические материалы в современной детской кардиохирургии / К. В. Дроздовский, Ю. И. Линник ; под ред. К. В. Дроздовского. – Минск : Беловагрупп, 2016. – 98 с. – ISBN 978-985-7154-08-1.

Монография посвящена изучению вопросов использования различных пластических материалов в современной детской кардиохирургии, необходимых для осуществления коррекции ряда врожденных пороков сердца. Монография представляет интерес не только для врачей-кардиохирургов, но и для детских хирургов, а также для врачей-ангиохирургов. На страницах издания можно найти новейшие сведения о преимуществах и недостатках используемых в настоящее время в кардиохирургии многочисленных пластических материалов. Предназначена для врачей хирургических специальностей, преподавателей и студентов медицинских вузов.

Табл. 5. Ил. 20. Библиогр.: 98 назв.

Рекомендовано Ученым советом ГУ «Республиканский научно-практический центр детской хирургии».

Р е ц е н з е н т ы :

д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой детской хирургии Белорусского государственного медицинского университета В. И. Аверин, д-р мед. наук, проф. кафедры детской хирургии Белорусской медицинской академии последипломного образования А. В. Дергачев, канд. мед. наук А. В. Горустович

ISBN 978-985-7154-08-1

© Дроздовский К. В., Линник Ю. И., 2016
© Оформление. ГУ «Республиканский научно-практический центр детской хирургии», 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение……. 5

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ……... 9

Полиэтилентерефталат…… 10

Политетрафторэтилен……. 17

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ…….. 19

Клапансодержащие аллографты…… 27

Роль криоконсервации в кардиохирургии…… 33

АЛЛОПЕРИКАРД…… 39

Криоконсервация аллоперикарда…….. 40

IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОГО АЛЛОПЕРИКАРДА…….. 43

Влияние предимплантационной подготовки на поверхностный рельеф криоконсервированного аллоперикарда……... 44

Исследования перикардиального графта после стерилизации и криоконсервации методом просвечивающей электронной микроскопии…. 47

Прочностно-эластические характеристики биоматериалов…… 50

Устойчивость биоматериалов к ферментативному лизису……. 54

IN VIVO ИССЛЕДОВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОГО АЛЛОПЕРИКАРДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ……. 57

Подкожная имплантация криоконсервированного аллоперикарда животным с целью изучения дистрофического кальциноза……... 58

Имплантация криоконсервированного аллоперикарда в кровоток в эксперименте……... 61

Световая микроскопия образцов перикарда после имплантации в артериальный кровоток в эксперименте……... 64

Световая микроскопия образцов перикарда после имплантации в венозный кровоток в эксперименте……... 66

Имплантация криоконсервированного аллоперикарда в серозную полость в эксперименте……. 68

ЗАКЛЮЧЕНИЕ…….. 71

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ…… 75

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему являются одной из основных причин смертности, в результате чего ежегодные расходы на лечение данной патологии только в США составляют почти 300 миллиардов долларов. При этом лечение заболеваний сердечно-сосудистой системы включает в себя различные подходы, начиная от медикаментозной терапии и заканчивая хирургическими вмешательствами. Если говорить о последних, то следует отметить, что в современной кардиохирургии как врожденных, так и приобретенных заболеваний сердца существует множество реконструктивных методов, суть которых заключается в восстановлении целостности камер сердца, его стенок или клапанов. Достаточно часто для этих целей требуется использование различных пластических материалов, наиболее оптимальными из которых являются собственные ткани пациента. Использование донорских тканей человека является немного менее предпочтительным, но по-прежнему высоко эффективным.

Все пластические материалы в зависимости от природы своего происхождения делятся на две основные группы: синтетические и биологические. Синтетические материалы включают в себя изделия на основе полимерных соединений, металлических сплавов либо керамики, а биологические – различного рода ткани человека и животных. Вместе с тем, существует еще одна группа так называемых композитных материалов, представляющих собой сочетание синтетического материала с биологическим. Идея их создания заключается в стремлении воспользоваться преимуществами одних и вместе с тем минимизировать недостатки других. Какая-то часть из огромного количества всех этих пластических материалов не прошла проверку временем, продемонстрировав свою неэффективность, а какая-то только начала использоваться в клинической практике и,

соответственно, в настоящее время не может быть оценена по достоинству и в полной мере.

Наиболее оптимальным пластическим материалом в детской кардиохирургии является собственный перикард пациента (аутоперикард). Однако возможность его применения существует только при первичной операции, так как во время повторных хирургических вмешательствах он не пригоден для использования. В то же время, применение при подобных операциях других материалов (как синтетических, так и биологических) сопряжено с рядом проблем, достаточно часто приводящих к необходимости проведения повторного хирургического лечения из-за развивающихся в отдаленном периоде осложнений. Наиболее существенными из них являются склонность биологических пластических материалов к дистрофическому кальцинозу, а также окклюзия просвета сосуда из-за избыточного неоинтимообразования. В свою очередь синтетические ткани, например, в большей степени, чем биологические подвержены инфекционным осложнениям.

Помимо всего прочего, одна из особенностей детской кардиохирургии заключается в том, что коррекция большинства сложных врожденных пороков сердца требует поэтапного выполнения от 2 до 4 операций. При этом во время каждой последующей реоперации вероятность повреждения сердца в процессе его выделения увеличивается. Для минимизации этих рисков используются мембраны из политетрафторэтилена (ePTFE). Они защищают сердце во время рестернотомии, однако при их применении наблюдается формирование грубого фиброзного пласта, значительно затрудняющего процесс кардиолиза и идентификацию структур сердца. Кроме того, использование мембран из политетрафторэтилена у пациентов после кардиохирургических вмешательств вызывает ухудшение «ультразвукового окна» и тем самым снижает точность последующих ультразвуковых исследований сердца.

Термин «биосовместимость» несколько неоднозначен и обычно используется для обозначения совокупности свойств, благоприятствующих имплантации. Среди них низкая тромбогенность, устойчивость к дистрофическому кальцинозу, избыточной пролиферации неоинтимы и возможность применения в нескольких анатомических позициях. Прочности и эластичности пластического материала придается особое значение: по убеждению некоторых исследователей они должны быть достаточными, чтобы обеспечить целостность материала на протяжении не менее 2 миллиардов сердечных циклов. Таким образом, проблема поиска пластического материала, обладающего высокой биосовместимостью с организмом пациента по-прежнему актуальна.

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

Как уже было сказано ранее синтетические пластические материалы, используемые в сердечно-сосудистой хирургии, в первую очередь представлены полимерами, металлами или их комбинацией. Основными преимуществами синтетических материалов являются их прочность и долговечность, хотя проблема их биосовместимости может создавать весьма ощутимые осложнения. Токсичность также крайне важна для синтетических материалов, особенно в случае биоразлагаемых материалов, которые могут выделять потенциально вредные побочные продукты разложения в организм.

Полиэтилентерефталат

Полиэтилентерефталат (ПЭТ) или Dacron® представляет собой термопластичный полимер, производимый компанией Maquet Cardiovascular. Данный материал может быть изготовлен во многих формах, но обычно он используется в качестве сосудистых трансплантатов в тканой или трикотажной конфигурации.

В настоящее время существуют три основных типа текстильных протезов из синтетических материалов: вязаные, тканые и плетеные. Считается, что плетеная конструкция искусственных синтетических сосудов более физиологична в первое время после операции, так как обладает до некоторого времени определенной эластичностью в продольном и поперечном направлении, улучшая гемодинамические характеристики таких протезов.

Одной из основных проблем сосудистой пластики является предупреждение тромбообразования при протезировании кровеносных сосудов, так как контакт крови с чужеродной для нее поверхностью вызывает повышение свертывающей системы и создает условия для тромбоза имплантата. Тромбогенные свойства различных полимеров варьируют в зависимости от разных факторов: химических свойств и чистоты материалов, гладкости, смачиваемости, гидрофильности или гидрофобности поверхности,

величины ее свободной энергии, знака и величины электрического заряда т. д.

Для предотвращения тромбообразования после сосудистых операций многие исследователи предлагают применять антикоагулянты, в частности гепарин. Однако это часто приводит к длительному кровотечению через стенку протеза или анастомоз в раннем послеоперационном периоде и образованию перипротезной гематомы, что значительно ухудшает результат произведенной операции. Кроме того, гематома имеет постоянную опасность нагноения. С другой стороны, даже применение антикоагулянтов не предупреждает тромбоза имплантата при дефектах хирургической техники, поэтому во многих странах настойчиво пытаются создать новые схемы антикоагулянтной терапии.

В настоящее время существует принципиально новый путь создания протезов, обладающих антикоагулянтными свойствами. Разработка этого направления базировалась на том, что нормальная сосудистая стенка обладает антикоагулятными свойствами за счет содержания в ней гепарина, гепаринсульфата и хондроитинсульфата. Учитывая, что нормальная сосудистая стенка содержит гепарин, ряд исследователей разрабатывали антитромбогенное покрытие протезов путем связывания гепарина бензалкониевым комплексом или непосредственно полимерами при помощи их предварительного аминирования. Создание таких протезов имеет важное значение для успешной борьбы с ранними тромбозами, однако полностью не решает вопроса об осложнениях, возникающих в отдаленные сроки. Одним из существующих недостатков применения таких протезов является возможность использования их лишь в составе плотных (тканых) протезов из-за опасности кровотечения через поры протеза. Причины неудач при сосудистой пластике (особенно при длительных сроках наблюдения) большинство исследователей связывает с отсутствием полного «вживления» синтетического протеза из-за плотной вязки или плетения. Исследования

А. Б. Шехтера с соавт. (1969), G. Bartos, I. Toth (1968), S. Weselowski (1963) показали, что быстрота вживления и эндотелизации протеза находится в прямой зависимости от степени его пористости, чем меньше пористость стенки протеза, тем чаще наблюдаются тромбозы.

Увеличение биологической пористости приводит к увеличению хирургической пористости, в результате происходит массивное кровотечение через стенку имплантата, степень и длительность которого зависят от конструкции протеза. Острая кровопотеря для организма является мощным рефлекторным раздражителем и вызывает резкую активацию свертывающей системы крови.

Следовательно, с одной стороны, необходимы протезы с высокой биологической пористостью, а с другой – с нулевой хирургической пористостью. Это несоответствие вызвало необходимость применения при операции методов, предупреждающих кровопотерю: предварительное замачивание протезов в крови, укрепление пористого протеза полиэтиленовой пленкой, применение многослойных протезов, пропитка синтетическими смолами, прокатка между горячими вальцами и др. Для уменьшения кровопотери было предложено много способов, однако в большинстве случаев они вызывали уменьшение не только хирургической пористости, но и биологической и лишали протез его основного качества – быстрого вживления. Поэтому важной конструктивной идеей, направленной на преодоление этих недостатков, явилось создание комбинированных протезов, состоящих из растворимого и нерастворимого компонентов.

Современные синтетические протезы, отвечая почти всем хирургическим требованиям, с биологической точки зрения имеют ряд существенных недостатков. В них из-за малой биологической пористости в поздние сроки во внутренней капсуле происходят дегенеративные изменения, которые приводят к ее отслоению, к возникновению тромбозов.

Попытки увеличения биологической пористости обычно приводят также и к увеличению хирургической пористости, что в свою очередь вызывает образование перипротезных гематом, которые в процессе организации деформируют протез, нарушают гемодинамику, приводят к тромбозу. Пропитывание во время операции протеза кровью для выпадения сгустка («преклоттинг», по De Bakey M.) на фоне искусственной гепариновой гемофилии не дает удовлетворительных результатов.

Выходом из создавшегося положения может быть изготовление так называемых полурастворимых, комбинированных протезов, состоящих из растворимого и нерастворимого компонентов. Ряд авторов в качестве растворимого компонента использовали полимерные вещества, созданные на основе поливинилового спирта (тиксотропный гель и виниловые волокна). Так, например, использовался протез, состоящий из растворимого (винилового) и нерастворимого (лавсанового и териленового) волокна. Однако было доказано, что пленка геля поливинилового спирта не рассасывается в течение одного года и задерживает прорастание соединительной ткани снаружи на внутреннюю поверхность каркаса через поры протеза, замедляя тем самым организацию фибрина.

В настоящее время нет рассасывающихся синтетических материалов, которые удовлетворяли бы требованиям хирургии сосудов. Поэтому исследователи обратили внимание на биологические полимеры, которые, кроме механической прочности, имеют минимальную антигенную активность и оптимальную скорость рассасывания в организме. Для того чтобы сделать стенку пористого протеза проницаемой для соединительной ткани, ряд хирургов предложили пропитывать его биологическими рассасывающими продуктами: желатином, куриной плазмой, фибрином, коллагеном.

S. Weselowski с соавт. (1961-1963, 1969, 1972) разрабатывали конструкцию протезов с 1959 г. Авторы изучили в эксперименте три

различных типа протезов: пропитанные различным количеством коллагена, комбинированные, состоящие из растворимых и нерастворимых нитей, и протезы, состоящие из специального волокна, имеющего нерастворимую сердцевину и растворимую «оплетку». Лучшие результаты были получены после применения протезов третьего типа. По мнению авторов, увеличение пористости стенки протеза от 5 до 10 л/мин позволит полностью избежать дегенерации внутренней капсулы, которая приводит в поздние сроки к тромбозу протеза. Авторы сформулировали следующие требования к сосудистому полубиологическому протезу:

1) сосудистая стенка должна быть плотной настолько, чтобы обеспечить первоначальную хирургическую пористость для воды в 0,05 л/см^2 в минуту или меньше;

2) биологическая пористость должна быть в среднем не менее 1 л/см^2 в минуту;

3) время лизиса растворимой фракции должно быть порядка времени организации аутофибрина;

4) каркас после лизиса растворимого компонента должен иметь такой размер пор, который не дает прямой кровопотери через стенку протеза.

Завершением всей этой работы явилось создание S. Weselowski (1965) совместно с фирмой «Meadox-Medicals» протезов, имеющих биологическую порозность 5 л/мин и состоящих из специального волокна с растворимой оплеткой.

При экспериментальной апробации этих протезов W. Krippaehne с соавт. (1965) в раннем послеоперационном периоде в большинстве случаев отметили образование перипротезных гематом, которое вело к резкому замедлению прорастания соединительной ткани через поры протеза и к более медленной эндотелизации его внутренней поверхности. В поздние сроки в большинстве случаев на месте протеза образовывалась аневризма. Исходя из этого, авторы не рекомендовали протезы к клиническому применению.

Другим путем пошли чешские ученые M. Chvapil, M. Krajicek (1963, 1966). Ими были созданы комбинированные протезы, состоящие из нерастворимого эластического синтетического каркаса большой пористости (до 17 л/мин), внутрь которого вставлялся туб из коллагена с толщиной стенки 0,8-1 мм. Для придания тубу антикоагулянтных свойств его пропитывали раствором гепарина.

Особое внимание при разработке комбинированных протезов уделяют растворимому компоненту. Он должен быть нетоксичным, иммунологически неактивным, не аккумулироваться и легко выводиться из организма, вступать в прочные комплексы с биологически активными веществами.

Наиболее перспективным среди биополимеров оказался белок соединительной ткани - коллаген, повышенный интерес к которому связан с рядом его ценных свойств. Это биополимер с молекулярной массой примерно 300000, длиной макромолекул 280 нм, диаметром 1,4 нм, который при определенных условиях образует волокнистую структуру, аналогичную волокнам соединительной ткани.

Из дисперсий и растворов коллагена возможно получение пленок, губок, нитей и других изделий. Ценным его свойством является также отсутствие токсичности и канцерогенности. Он легко переваривается протеолитическими ферментами и выводится из организма почками в виде пролина и оксипролина. Скорость лизиса коллагена в организме регулируется степенью молекулярного сцепления, осуществляемого обработкой различными дубящими агентами.

Аминокислотный состав коллагена отличается большим содержанием пролина и оксипролина и незначительным включением ароматических аминокислот, чем объясняется, по-видимому, его слабая антигенная активность, которая почти полностью исчезает после обработки щелочами и кислотами. С другой стороны, наличие в структуре коллагена большого количества активных группировок различной природы (гидроксильных,

карбоксильных, аминных и др.) способствует образованию комплексов с различными лекарственными и биологически активными веществами.

Спиральное строение молекулы коллагена и фибриллярная надмолекулярная организация обусловливают его структурную стабильность, что дает высокую механическую прочность, так необходимую в пластической хирургии.

А. М. Хилькин с соавт. (1965) впервые в нашей стране создали полубиологический протез, состоящий из высокопорозного каркаса, пропитанного коллагеном. Авторы получили положительные результаты с протезами биологической пористости 5 л/мин. Аортальные протезы с большей биологической пористостью дают значительный процент кровотечений и для их внедрения требуется дальнейшая разработка.

Коллаген является общедоступным биополимером, количество которого практически неограниченно. Разработка методов полного растворения коллагена позволяет получать его из любого коллагенсодержащего сырья.

Политетрафторэтилен

Широкое внедрение растяжимого политетрафторэтилена (ePTFE) в сердечно-сосудистой хирургии стало возможным благодаря простоте использования этого материала. Этот материал лучше известен под коммерческой маркой Gore-tex® и производится компанией Gore Medical в виде заплат, сосудистых трансплантатов и шунтов. ePTFE состоит из организованного в три слоя фторуглеродного полимера. При этом средний микропористый эластичный слой окружен двумя слоями полимерных фибрилл. Полученная структура обеспечивает высокое отношение прочности к массе и устойчивость к дилатации. В свою очередь химический состав протезов способствует их низкой тромбогенности, снижению кальцификации и обеспечивает биохимически инертные свойства. Все это в совокупности позволило сделать ePTFE отличным вариантом для наложения межсистемных аорто-легочных шунтов, и даже покрытия имплантируемых устройств (стентов).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

Биологические ткани используются в сердечно-сосудистой хирургии в течение более 50 лет при различных реконструктивных операциях на сердце и сосудах в качестве пластического материала, при заменах вен, артерий, перикарда и клапанов сердца. За это время в мире накоплен значительный опыт в данной отрасли: были исследованы различные типы тканей человека и животных, способы их обработки и консервации, оценены результаты длительного клинического применения биопротезов сосудов и клапанов сердца (ксеноперикардиальных и ксеноаортальных), произведена сравнительная оценка каркасных и бескаркасных протезов клапанов сердца второго и третьего поколений, гомографтов и аллографтов аортальных и пульмональных клапанов. Привлекательность биопротезов состоит в их естественной биологической структуре (коллаген, эластин), низкой тромбогенности, эластических свойствах, близких к характеристикам естественных тканей.

Важнейшим фактором, влияющим на долговечность биопротезов, является выбор метода их консервации. Стабилизация биологической ткани осуществляется путем ее химической обработки веществами, способными образовывать прочные интрамолекулярные и межмолекулярные поперечные связи с аминокислотами молекул коллагена. Стабилизирующие химические агенты предназначены для прекращения кальцификации и максимального сохранения эластических свойств ткани створок биопротеза, а методы стерилизации и консервации — сохранять морфологическую целостность и функциональную полноценность биологического материала, достигнутую на этапе стабилизации.

Эффективными критериями метода консервации считаются гарантия стерильности, сохранение механических свойств (прочности, эластичности), защита от клеточной инфильтрации, предупреждение иммунных реакций посредством исключения активных антигенных составляющих, сохранение коллагеново-эластического слоя. В начальный период биопротезирования в

качестве стерилизующих средств использовали бета-пропиолактон с последующим хранением в среде Хенкса, γ-облучение с замораживанием при температуре - 79° С, 4% раствор формальдегида.

К периоду 1965-1967 гг. относится процесс первого применения необработанных ксенотрансплантатов, однако через несколько месяцев всем выжившим пациентам потребовалось репротезирование. В 1967-1968 гг были имплантированы биопротезы, обработанные раствором формалина. Их дисфункция развилась в сроки до двух лет (Carpentier A., Merin G.). Глубокое замораживание с последующим γ-облучением было предложено J. Malm в 1967 г. Метод обеспечивал достаточно надежную стерилизацию, не влиял на иммунные свойства ксеноткани.

Принципиально новым подходом к вопросам обработки биоклапанов было применение O'Brien и J. Clarebough 4% формальдегида в 1966 г. Это позволяло повысить жесткость ткани за счет поликонденсации белков. Однако кинические результаты его применения продемонстрировали высокую частоту ранних дисфункций - 60% и 100% через 2 года и 4-6 лет соответственно. Выяснилось, что формальдегид образует с коллагеном мономолекулярные связи, в результате чего со временем ткань подвергалась дегенерации и кальцификации. A. Carpentier в 1969 г предложил в качестве дубящего агента глутаровый альдегид. Метод заключался в сочетанном применении метапериодата натрия и глутарового альдегида с последующей стадийной обработкой биоматериала.

Способ консервации, вошедший в историю под названием метода кондиционирования, включал комплекс мероприятий, направленных на изменения основных структур элементов биологической ткана клапана. При этом растворимые белки удалялись путем электродиализа и промывания клапанов в солевом растворе, нерастворимые белки денатурировались под влиянием метапериодата натрия, а свободные аминогруппы стабилизировались глютаровым альдегидом (так называемая сшивка

полипептидной цепи коллагена). Клиническая апробация биопротезов, обработанных методом кондиционирования, состоялась в 1967-68 гг. и продемонстрировала хорошие непосредственные результаты. Однако изучение отдаленных результатов имплантации биопротезов, обработанных методом кондиционирования, показало, что денатурация коллагена метапериодатом натрия и другими окисляющими агентами значительно повышает его способность к кристаллизации нерастворимых соединений кальция и, в итоге, провоцирует ускоренную минерализацию биопротеза. Молекулы глутаральдегида образуют необратимые химические межмолекулярные связи коллагена (поперечные сшивки), а так же связи с белками других структур нативного клапана, в результате чего биологическая ткань в значительной степени теряет свои индивидуальные иммунные свойства и становится устойчивой к воздействию коллагеназы, резко возрастает устойчивость коллагена к термической денатурации. Метод превосходил все предложенные ранее по антигенодепрессивному, стерелизующему и сшивающему эффектам, однако позже выяснилось, что метапериодат натрия способствует кристаллизации фосфатов кальция на коллагене. Основным морфологическим субстратом изменений ткани является образование кальцинатов, их структура аналогична минералам костной ткани.

В начале 70-х годов в Hancock Laboratories был предложен альтернативный способ консервации, заключающийся в стабилизации биоткани 0,5 — 0,625% раствором глютарового альдегида без каких – либо дополнительных методов обработки. В настоящее время этот метод консервации биотканей является приоритетным и используется во всех научных центрах и лабораториях, специализирующихся на изготовлении биологических протезов клапанов сердца.

С середины 80-х годов большинство производителей перешли на консервацию ксеноаортальных биопротезов глютаровым альдегидом при

низком (2-4 мм. рт. ст.) или нулевом запирающем давлении на створки, в то время как раньше основная масса биопротезов консервировалась при запирающем давлении, равном 60-80 мм. рт. ст. Это было связано с улучшением биомеханических свойств ткани клапана при глютаральдегидной сшивке его коллагеновой основы в нерастянутом состоянии.

В современной литературе биопротезы, консервированные при низком и нулевом давлении, называют «биопротезами второго поколения», в отличие от «биопротезов первого поколения», фиксированных при высоком запирающем давлении на створки.

Наиболее подходящим биологическим материалом по биосовместимости и антигенной структуре, безусловно, являются ткани человека. В экспериментах и клинике были опробованы различные аутологичные ткани (перикард, широкая фасция бедра, подкожные вены, артерии), из которых только большая подкожная вена нижних конечностей и внутренняя грудная артерия используются в клинике как материал выбора для аортокоронарного шунтирования. Реже применяются аутогенные лучевая и желудочно-сальниковая артерии. Использование твердой мозговой оболочки и широкой фасции бедра потерпело полную неудачу: клапаны, изготовленные из этих материалов, кальцинировались и разрушались в течение первых лет после имплантации и обладали неудовлетворительными гемодинамическими характеристиками. Применение сосудов (вены) пуповины было более удачным, но не завоевало большого распространения из-за посредственных эластических свойств вены, ее низкой прочности и склонности к образованию аневризм. Основным ограничивающим фактором использования тканей человека является их существенная дефицитность, ограниченные временные рамки забора материала, высокая стоимость приготовления и хранения.

Более доступными и близкими по антигенной структуре к человеку оказались ткани свиней и телят. Самую большую популярность у кардиохирургов завоевали перикард, внутренняя грудная артерия телят и аортальные клапаны свиней, что обусловлено их доступностью в большом количестве, относительной легкостью обработки, высокими эластическими и прочностными характеристиками, близкой антигенной структурой.

Использование других видов тканей различных животных в виде сосудистых или клапанных протезов ограничены, как правило, экспериментальными или единичными клиническими работами.

Бычий перикард остается одним из наиболее распространенных материалов для производства клапанов. Для того чтобы редуцировать антигенные свойства ткани требуется обработка глютаральдегидом. Глютаральдегид – сложное органическое вещество, обладающее стерилизующими и дезинфицирующими свойствами. В области здравоохранения глютаральдегид чаще всего используется для дезинфекции оборудования, которое не может подвергаться тепловой стерилизации, а именно инструменты для диализа, хирургические инструменты, бронхоскопы, эндоскопы и другие инструменты. Его, в том числе, применяют при подготовке трансплантантов и биопротезов.

Тем не менее, по прошествии некоторого времени было установлено, что бычий перикард после подобной обработки с последующей имплантацией человеку подвергается дегенеративным процессам, при которых увеличивается плотность материала, происходит кальцификация с последующим разрушением и неспособностью ксеноматериала отвечать возложенным на него функциям.

Главными причинами подобной деградации ксеноперикарда являются применение глютаральдегида и неполная иммунная редукция антигенов донорского материала. Патогенетическим звеном служат остатки альдегида на имплантированной ткани, с которыми взаимодействует свободный

кальций в крови реципиента, оседая на остатках глютаральдегида, разрастаясь и образуя узелки кальцификации. Так же свободный кальций взаимодействует с клеточной мембраной имплантируемой ксеноткани, а именно с фосфолипидами и холестеролом.

Кроме того, применение ксеноперикарда у детей остается ограниченным из-за большой частоты послеоперационной несостоятельности, связанной с развитием дегенеративных процессов, обусловленных высокой скоростью обмена кальция в растущем организме.

К настоящему моменту предложено множество стратегий, которые направлены на уменьшение степени кальцификации ксеноматериала после кардиохирургических вмешательств. Среди них предварительная обработка биоматериала солями металлов, детергентами, бифосфатами и прочими химическими реагентами. Тем не менее, нет ни одного доказанного эффективного способа предотвращения разрушения кальцием фиксированных в глютаральдегиде материалов, так как все приведенные методики лишь частично уменьшают его степень. В то же время исследователи из университета Мичигана (США) выдвинули теорию, которая гласит, что обработка фиксированного биологического материала в глютаральдегиде этанолом различной концентрации предотвращает кальцификацию биопротезов путем удаления липидов клеточной мембраны, а так же вызывая изменения структуры коллагена.

Альтернативной стратегией по снижению уровня кальцификации является обработка графта 2-аминоолиевой кислотой, которая, как предполагается, ковалентно соединяется с остатками альдегида, предотвращая обызвествление. Это было показано в различных исследованиях, проведенных на животных, а именно на крысах и овцах. Однако так же доказано, что основания (Шиффовы основания), образуемые при взаимодействии остатков альдегида с кислотой имеют обратимость и

соответственно долгосрочные результаты ингибирования процессов кальцификации не могут быть достоверны.

Существует множество химических веществ и соединений, посредством которых исследователи пытались ингибировать процесс кальцификации. Одно из них – алюминия хлорид ($AlCl_3$). Алюминий предотвращает процессы кальцификации благодаря тому, что ингибирует минерализацию эластина: сам алюминий связывается с эластином, а так же не позволяет щелочной фосфатазе работать и воздействовать на ткани.

Практически все исследования, проведенные с использованием хлорида алюминия показали, что он нетоксичен и снижает уровень обызвествления фиксированного в глютаральдегиде биологического материала. Алюминия хлорид из всех солей металлов является наиболее подходящим химическим веществом.

Клапансодержащие аллографты

Первые упоминания об успешном использовании аллографтов относятся к 1956 году, когда Murray имплантировал донорский аортальный клапан в нисходящую аорту пациенту при недостаточности аортального клапана. В 1961 году Bigelow имплантировал аллографт аортального клапана в ортотопическую позицию, однако данная операция закончилась летально. В дальнейшем, Donald Ross и Brian Barratt-Boes независимо друг от друга доложили о начале клинического использования аортальных аллографтов в ортотопической позиции. Бурное развитие кардиохирурги в 70-е годы привело к достаточно активному использованию аллографтов для коррекции пороков аортального клапана и восходящей аорты. Первые результаты использования аллографтов показали, что они адекватно корригируют внутрисердечную гемодинамику, существенно снижают риск тромбоэмболических осложнений, не требуют проведения пожизненной антикоагулянтной терапии, улучшают качество жизни оперированных пациентов.

После прошедшей радости от успеха, связанной, как считалось ранее, с появлением идеального материала для реконструкции клапанов сердца, стало появляться множество вопросов. Остро встала проблема формирования кальциноза биологического материала – основного препятствия на пути применения аллографтов, а также невыясненные вопросы иммунологии аллографтов, отсутствие четкого перечня показаний и противопоказаний к их применению, особенности технологии изготовления аллографтов, техники их хирургической имплантации – вот целый комплекс невыясненных вопросов, возникших в результате анализа многолетнего клинического опыта использования аллографтов. Первые попытки использования аллографтов поставили следующие задачи перед кардиохирургами:

1. недостаточно широкая доступность аллографтов и сложность подбора донора требовали создания банка аллографтов

2. отсутствие способа длительного хранения клапана подталкивали к созданию методик консервации.

Появление методик криоконсервации, включая программированный метод замораживания, разработка криопротекторов, позволили долгосрочно хранить аллографты без изменения морфологической и биологической структуры, что в дальнейшем позволило создать систему тканевых банков.

Существует ряд абсолютных противопоказаний для забора биологических тканей с последующим их применением как аллографтов. К ним относится ВИЧ, гепатит В или С, сифилис и т.д. Возраст донора является относительным противопоказанием, однако предпочтительным для мужчин является возраст до 60 лет, а для женщин – до 62 лет.

Главный комплекс гистосовместимости в большинстве центров уже практически не сравнивают между донором и реципиентом, т.к. эндотелий створок клапанов имеет недостаточно антигенов. Тем не менее, вопрос о долгосрочном эффекте из-за несоответствия гистосовместимости остается дискутабельным.

Тромбоэмболические осложнения и антикоагулянтные кровотечения - это основные факторы негативных результатов после хирургического лечения клапанной патологии, как у взрослых, так и у детей. После сердечной недостаточности, тромбоэмболические осложнения - ведущая причина смерти при клапанном протезировании. Потенциальная смертность от антикоагулянтных кровотечений достигает 5% в год.

Увеличенная скорость кальциевой дегенерации ксенографтов у молодых людей отмечена большинством исследователей, поэтому подавляющее количество кардиохирургов имплантирует механические протезы пациентам моложе 60 лет.

Клапанное протезирование у детей представляет значительные сложности. Использование механических клапанов у детей ассоциируется не только с техническими трудностями имплантации в младшей возрастной

группе, а также с антикоагулянтными осложнениями и гемодинамическими дисфункциями. Попытки применения ксенографтов у детей производились в надежде избежать антикоагулянтной терапии. Применение их остается ограниченным из-за большой частоты ранней послеоперационной недостаточности и последующей кальцификации.

D. Ross и его коллеги опубликовали значительное число работ, обобщивших методики и результаты использования аллографтов. В 1979 г. его группа опубликовала данные о сравнении результатов операций при протезировании аортального клапана свежими стерилизованными антибиотиками аллографтами и криоконсервированными аллографтами. Отсутствие необходимости в реоперации в течение шести лет у пациентов с имплантированными свежими аллографтами составило 89% и 79% у пациентов, которым имплантировали криосохраненные аллографты. Авторы исследовали клеточную структуру имплантированных клапанов, и доказали, что сохранение функции аллографтов превышает естественную сохранность клеточной структуры клапанов. На основании исследований выживаемости фибробластов, с помощью тимидина, меченого тритием, группа D. Ross установила, что через 600 дней после имплантации аллографта у пациента не остается донорских фибробластов. И хотя свежеприготовленный аллографт сохраняет гистологическую структуру и метаболическую активность клеточной функции, это длится не более одного месяца после имплантации. Было также выявлено, что длительность нормальной функции аллографта больше при имплантации его в правые отделы сердца, чем в левые, и она незначительно зависит от времени хранения и от времени тепловой ишемии. Также была подтверждена гипотеза о том, что длительность нормальной функции фибробластов и других клеточных элементов связана с сохранностью их структуры на момент имплантации. Это исследование показало, что длительность нормального функционирования клапанного аутографта в аортальной позиции практически не отличается от

длительности нормального функционирования клапанного аллографта, одновременно имплантированного в позицию легочного клапана в течение 14 лет и составляет 82% и 81% соответственно. Вместе с тем, многие авторы отмечают исключительно важную роль хирургической техники при выполнении данных операций.

Учёные из Новой Зеландии под руководством B. Barratt-Boyes при анализе опыта применения аллографтов у 252 пациентов в отдаленный период от 9 до 16,5 лет (в среднем 10,8 года) выявили, что летальность, связанная с нарушением функции клапана составила 7,9% (20 пациентов). В основном она была обусловлена инфекционным эндокардитом (ИЭ) 3,2% (8 пациентов), разрывом створок аллографта 2,8% (7 пациентов), недостаточностью клапана, последующей реоперацией и смертью 2,0% (5 пациентов). Авторами было отмечено отсутствие значительной недостаточности клапана аллографта в течение 5 лет у 95% пациентов, в течение 10 лет – у 78%, в течение 14 лет – у 42%. Учёные установили факторы, повышающие риск развития недостаточности клапана аллографта - возраст донора аллографта старше 55 лет и возраст реципиента до 20 лет. В этом исследовании не отмечалось стенозов клапана и эмболий, связанных с аллографтом.

Резистентность клапанных аллографтов к инфекционному эндокардиту, вне зависимости от метода хранения, отмечена всеми авторами. При определении факторов риска послеоперационного эндокардита среди различных клапанных протезов выявлен значительно меньший риск развития протезного эндокардита после использования аллографтов, особенно в ранний послеоперационный период.

В сравнении с результатами имплантации аллографтов в аортальную позицию, использование их в целях реконструкции выходного отдела правого желудочка и легочной артерии оказалось гораздо более успешным, особенно у детей.

Применение кондуитов в лечении сложных ВПС имело революционное значение, дало возможность проводить анатомическую коррекцию ранее некоррегируемых аномалий. К сожалению, дисфункция кондуита часто дискредитировала хороший первичный результат операции и ассоциировалась со значительной летальностью. Нарушение функции кондуита развивалось преимущественно вследствие кальциноза и дегенерации клапана ксенографта, формирования отслойки в дакроновом кольце и тромбоэмболии. Исследования крупных центров показали, что свиные клапаны, составляющие кондуит, быстро подвергаются необратимой дегенерации, особенно у детей. По данным исследования Лондонского детского госпиталя, в котором средний возраст пациентов составил 6,5 лет, только 7% больных после имплантации ксенографтов не требовали реоперации через 5 лет.

R. Jonas и соавторы в 1985 году сообщили о результатах реконструкции правого желудочка и легочной артерии у 201 ребенка. В качестве кондуита использовался свиной аортальный клапан, вшитый в тканный дакроновый кондуит. Выживаемость в этой группе пациентов составила 83% в течение 8 лет. Необходимость в выполнении повторной операции возникла у 50% пациентов в течение периода наблюдения. Однако большинство поздних осложнений у этих детей было связано деструкцией клапана вплоть до полной дисфункции после 10 лет. С другой стороны F. Fontan и коллеги показали возможностью нормальной функции аллографтов у 80% пациентов за 9 лет у детей со сложными ВПС. Многими авторами отмечено, что в отдаленный послеоперационный период стенка аллографта может кальцифицироваться, однако створки клапана остаются подвижными, без признаков стенозирования. Это подтверждается исследованием ученых из Ормонда под руководством C. Bull, в котором отмечается, что, из 29 имплантированных без использования дакрона аллографтов, только в одном случае в отдаленный послеоперационный период возник стеноз клапана.

Наиболее часто недостаточность клапана развивается постепенно, что позволяет вовремя выполнить репротезирование. Кроме этого, многие авторы отмечают, что иммунный ответ не играет роли в повреждении створок клапана, хотя этот механизм возможен в процессе кальциевой дегенерации стенки аллографта.

Роль криоконсервации в кардиохирургии

Человечество всегда мечтало иметь возможность остановить время, продлить период молодости организма. Изначально методом криоконсервации занялись генетики и биологи для сохранения репродуктивных клеток человека. Более чем два века назад, в 1776 году, Spallanzani первым сообщил о сохранении подвижности сперматозоида после воздействия низких температур на него. В 1866 году Mantagazza предложил создать банк замороженной человеческой спермы. В 1949 году Polge с коллегами обнаружили возможность глицерина как криопротективного агента при заморозке сперматозоида петуха. В последующем Smith доложил о успешной криоконсервации эритроцита в глицерине. Вскоре после этого об успешном замораживании человеческого сперматозоида сообщил Шерман (1953), отметив, что человеческие сперматозоиды, криоконсервированные в сухом льду, после разморозки смогли оплодотворить яйцеклетку и произвести нормальное эмбриональное развитие. Первое успешное оплодотворение, после замораживания человеческого сперматозоида в парах жидкого азота с использованием глицерина как криопротектанта, было описано той же самой группой. Так появилось такое понятие как криопротектор.

В 1959 году Lovelock и Bishop описали преимущества диметилсульфоксида как криопротектора по сравнению с глицерином. В следующие десятилетия началась вереница исследований, которые были направлены на усовершенствование методов криоконсервации, поиска идеального криопротектора, а так же на изменения, которые происходят в клетке при заморозке. Так, Mazur и коллеги, в 1972 году выдвинули «двухфакторную гипотезу», в которой оговаривалось, что имеется прямая взаимосвязь между скоростью охлаждения и выживанием клетки. На данную гипотезу ученые всего мира опирались практически сорок лет.

Криопротекторы должны обладать низким уровнем токсического воздействия на клетку, а так же должны быть гидрофильны. Им присущи определенные свойства: стабилизация мембран клеток, снижение внутриклеточной концентрации солей, уменьшение фракции растворителя. Существует несколько видов криопротектеров. Первая группа это проникающие криопротекторы (глицерин, диметилсульфоксид, пропиленгликоль). Они могут проникать через клеточную мембрану в связи с их низкой молекулярной массой и образовывать водородные связи с молекулами воды, препятствуя образованию внутриклеточного льда. Вторая группа это непроникающие криопротекторы (альбумин, гидроксиэтилкрахмал). Они имеют молекулярную массу более 50000 дальтон и дегидратируют клетку еще до криоконсервации.

На данный момент повсеместно как криопротектант используется диметилсульфоксид. Использование человеческого альбумина является предметом для споров. Однако наряду с этим большинство банков клапанных графтов использует 10-20% человеческий альбумин при криоконсервации тканей. Не стоит всецело полагать, что криопротектант только защищает клетки от повреждений. При неправильно выбранной концентрации протектантов они могут приводить к направленному биохимическому повреждению клеток. При этом происходят процессы денатурации ферментов, нарушение трансмембранных потоков с последующим нарушением осмотического равновесия.

С развитием методов криоконсервации встал вопрос в улучшении методов хранения замороженного биологического материала, которые удовлетворяли бы потребность быстрого возвращения тканям нормальных функций при нормотермии. Главные достижения здесь принадлежали улучшениям криоконсервантов, в которые начали включать питательные среды, буферные растворы, в том числе поддерживающие онкотическое давление на постоянном уровне. Клетка во время криоконсервации

испытывает стресс, вызванный биофизическими и электрохимическими реакциями, которые происходят как во внеклеточном пространстве, так и в цитозоле и клеточной мембране. Происходит резкое изменение концентрации солей и электролитов, после чего наступает осмотический шок.

Существует два повреждающих фактора на клетку при криоконсервации. Это образование внутриклеточного льда и изменение осмотического равновесия. Объем клеточного льда зависит от количества свободной воды в клетке и во внеклеточном пространстве. Существующие теории предполагают, что мелкие кристаллы льда внутри клетки являются термодинамически нестабильными, стремятся объединиться с внеклеточными кристаллами для формирования более крупных стабильных кристаллов. Однако достоверные механизмы повреждения клетки при кристаллизации и декристаллизации не до конца ясны.

В то время как некоторые млекопитающие развили механизмы, которые поддерживают гипотермию целого организма (при зимней спячке), немного клеток человека в естественных условиях терпят низкое температурное воздействие в течение нескольких часов. Гипотермия без должного контроля извне приводит к прогрессирующей гибели клеток во время каждой из фаз (охлаждение, хранение и размораживание). Так же при воздействии гипотермии на клетки человека происходят необратимые изменения в клеточной мембране, переводя ее состояние текучести от жидкого кристаллического до состояния твердого геля. Затем происходит каскад разрушающих событий: активация и выход из лизосом всех ферментов, гидролаз липопротеина, которые инициируют аутолизис клетки.

Многие исследования стремились найти оптимальную скорость охлаждения. Считалось, что при очень медленном охлаждении клетка способна поддерживать баланс между внутри- и внеклеточной жидкостью, справляясь с потерями воды, и исследователи охлаждали биологический

материал со скоростью 0,1°С в минуту. Однако в последующем было показано, что при медленном охлаждении образуются крупные кристаллы льда как внутри клетки, так и во внеклеточном пространстве. При быстром охлаждении (1,5°С в минуту и даже 5°С в минуту) так же происходит образование кристаллов льда внутри клетки, так как клетка не успевает дегидратироваться.

Использование неоптимальных протоколов заморозки проявляется разрывом клетки и некрозом на ранней стадии. Если скорость заморозки наоборот, слишком медленная, то криоконсервирующий раствор концентрируется в клетке и вместо защиты воздействует на нее токсично.

После завершения замораживания биологический материал хранится в сосудах Дьюара. Во время хранения клетка окружена тонким слоем криопротектанта, который находится в состоянии витрификации. Затем, когда биологический материал изымают для разморозки, требуются соответствующие протоколы скорости разморозки, при которых будет наблюдаться минимальное повреждающее действие внутриклеточного льда на клетку. Несмотря на значительные успехи в сфере криоконсервации, ученые пришли к выводу, что не на всех клетках млекопитающих стандартные протоколы криоконсервации действуют одинаково.

Процессы апоптоза клетки в ответ на воздействие низких температур были отмечены во многих системах человека, включая клетки почек, фибробласты, гепатоциты, клетки крови, пуповинную кровь, сперматозоиды, ооциты, ткань сердечно-сосудистой системы и т.д. Многие исследователи не могли выявить тот факт, что некроз клеток на молекулярном уровне часто занимал часы и даже дни после размораживания, поэтому они считали данные методы успешными. Однако позднее начали появляться исследования, которые приблизились к открытию причин некроза и их связи с криоконсервацией.

Криоконсервация ткани либо органа является намного более сложной и трудной проблемой, чем криоконсервация отдельных клеток. Во-первых, в дополнении к повреждению клетки образованным внутриклеточным льдом стоит проблема образования льда в кровеносных сосудах. Чтобы минимизировать этот эффект, требуется глубокое понимание и предсказание механизмов формирования льда при криоконсервации органов. Однако существует очень мало экспериментальных данных, которые освещают этот аспект. Таким образом, несмотря на существование криоконсервации биологических тканей уже более полувека, остается еще много неизученных вопросов.

АЛЛОПЕРИКАРД

Криоконсервация аллоперикарда

После каждого из этапов подготовки биологического материала для использования в ходе выполнения хирургического вмешательства (забор у донора, стерилизация, криоконсервация с последующим размораживанием) образцы перикарда подвергались изучению с помощью световой микроскопии. При проведении гистологического исследования все образцы перикарда были представлены плотной оформленной соединительной тканью с компактно расположенными пучками коллагена, между которыми визуализировались одиночные фибробласты. Поверхность перикарда, непосредственно прилегающая к сердцу, была выстлана непрерывным слоем мезотелия. При этом процесс стерилизации путем помещения в раствор антибиотиков не вызывал существенного изменения морфологии перикарда. Компактность расположения пучков коллагеновых соответствовал таковой для нативной ткани, а мезотелий был сохранен на всем протяжении, за исключением единичных и весьма ограниченных участков.

В свою очередь криоконсервация с последующим размораживанием в некоторой степени способствовала изменению структуры ткани на микроскопическом уровне. В частности, отмечалось умеренное снижение плотности упаковки коллагеновых волокон за счет разрыхление образца. При этом лишенные мезотелия участки перикарда, имели немного бóльшую протяженность, чем после процесса стерилизации, но по-прежнему носили локальный характер.

С целью более углубленного изучения влияния процесса подготовки перикарда (стерилизация и криоконсервация с последующим размораживанием) на его сохранность был проведен анализ выживаемости фибробластов в образцах ткани на каждом из этапов. После подсчета количества живых фибробластов в пяти полях зрения (×400) каждого из гистологических препаратов высчитывался средний показатель. При анализе полученных результатов было установлено, что процесс стерилизации

перикардиального графта в содержащей смесь антибиотиков питательной среде «RPMI 1640» в течение 24 часов при температуре плюс 4°С не вызывает изменений гистологической структуры ткани.

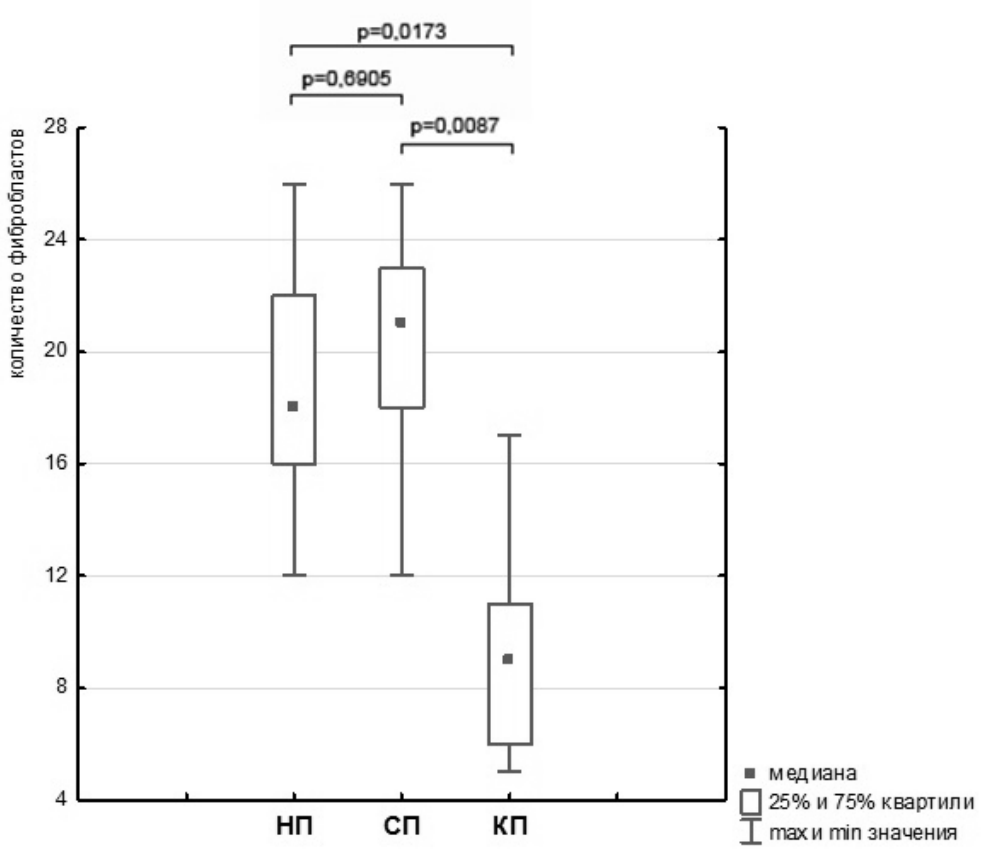

Рисунок 1 – Сохранность фибробластов перикарда на различных этапах подготовки материала. НП – нативный перикард, СП – перикард после стерилизации, КП – перикард после криоконсервации

Это было подтверждено результатами световой микроскопии, а также отсутствием достоверных различий (p=0,6905) между показателями выживаемости фибробластов в нативных и прошедших стерилизацию образцах перикарда (рис. 1). В свою очередь образование внеклеточных кристаллов льда в процессе криоконсервации ткани и последующего ее размораживания (из-за рекристаллизации воды) сопровождается некоторым

разрыхлением образцов. Соответственно, увеличение площади межклеточного пространства приводит к перераспределению клеточных компонентов на бóльшей территории. Вероятнее всего, подобные изменения морфологии перикарда после криоконсервации и обуславливают «ложное» снижение показателя выживаемости фибробластов в ткани по сравнению с нативными и прошедшими стерилизацию образцами ($p=0,0173$ и $p=0,0087$, соответственно).

Кроме того, после каждого из этапов подготовки биологического материала для использования в ходе выполнения хирургического вмешательства (забор у донора, стерилизация, криоконсервация с последующим размораживанием) образцы перикарда подвергались изучению с помощью просвечивающей электронной микроскопии.

При проведении исследования во всех трех сериях препаратов были обнаружены живые фибробласты без каких-либо признаков клеточной деструкции. В то же время, в образцах ткани, подвергшихся криоконсервации с последующим размораживанием, было зарегистрировано снижение компактности расположения соединительнотканных (коллагеновых и эластиновых) волокон.

IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОГО АЛЛОПЕРИКАРДА

Влияние предимплантационной подготовки на поверхностный рельеф криоконсервированного аллоперикарда

Объектом исследования являлись образцы перикарда, фиксированного различными способами:

- криоконсервированный человеческий перикард;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 0,625% р-ром глютаральдегида в течение 20 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 2% р-ром глютаральдегида в течение 5 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 96% этанолом в течение 10 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 96% этанолом в течение 20 минут.

После тщательного промывания в физиологическом растворе материал помещался в изотонический водный раствор солей редкоземельных элементов ($Nd(NO_3)_3$ – нитрат неодима, $La(NO_3)_3$ – нитрат лантана, $CeCl_3$ – хлорид цезия). Экспозиция образцов в данном контрастирующем растворе осуществлялась в течение 6 часов при температуре плюс 4°С. Перед проведением исследования материал кратковременно промывался в дистиллированной воде (5-8 сек) и помещался на предметный столик микроскопа с последующим удалением остатков воды путем деликатного промакивания фильтровальной бумагой.

Сканирующая электронная микроскопия проводилась в режиме низкого вакуума, при ускоряющем напряжении 15-30 кВ. В ходе исследования оценивалась структура поверхности образцов после фиксации различными химическими реагентами (рис. 2).

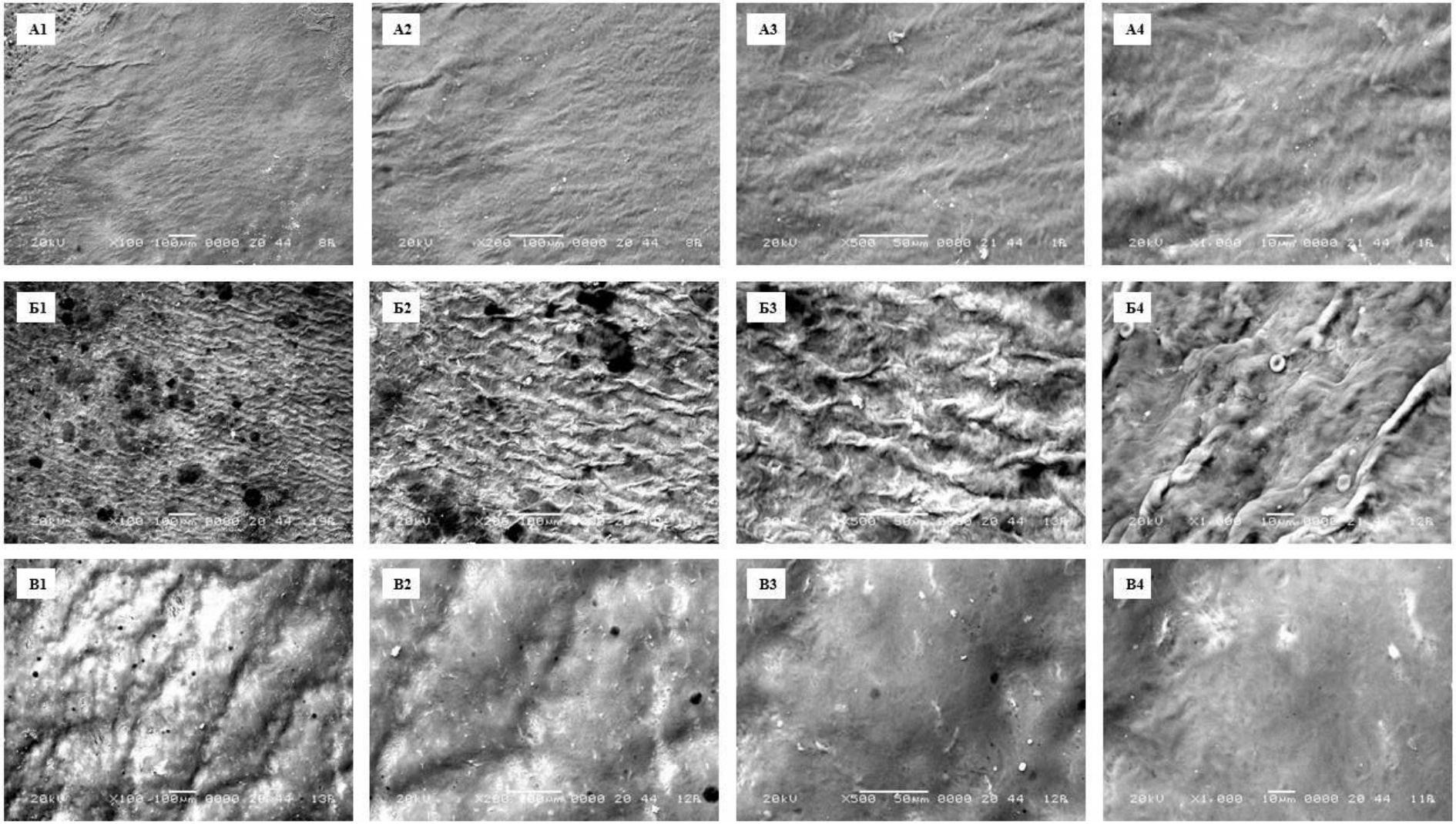

Рисунок 2 – Сканирующая электронная микроскопия поверхности криоконсервированного перикарда человека (А) после различных видов предимплантационной химической обработки (Б – 0,625% р-ром глютаральдегида в течении 20 мин; В – 96% р-ром этанола в течении 20 мин). 1 – увеличение ×100; 2 – увеличение ×200; 3 – увеличение ×500; 4 – увеличение ×1000.

Нами было выдвинуто предположение, что именно ее состояние может обуславливать избыточную пролиферацию неоинтимы в просвете сосуда, которая периодически наблюдается после использования перикардиальных заплат «Биокард».

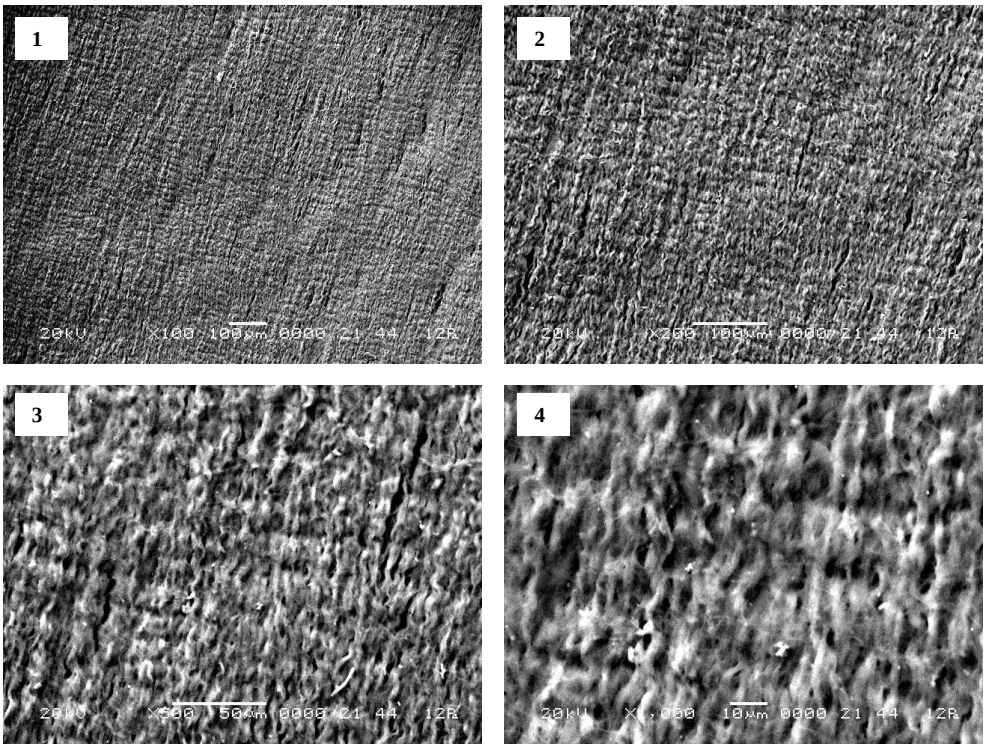

Рисунок 3 – Сканирующая электронная микроскопия поверхности перикардиальной мембраны «Биокард». 1 – увеличение ×100; 2 – увеличение ×200; 3 – увеличение ×500; 4 – увеличение ×1000

Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что поверхность криоконсервированного перикарда, в том числе после обработки 96% этанолом, выглядит достаточно гладкой и на всем протяжении покрыта мезотелием. В то же время, внешний вид материала после применения глютаральдегида больше соответствует таковому для «Биокарда»: поверхность волнистая, сохранность мезотелия сомнительная.

Исследования перикардиального графта после стерилизации и криоконсервации методом просвечивающей электронной микроскопии

После каждого из этапов подготовки биологического материала для использования в ходе выполнения хирургического вмешательства (забор у донора, стерилизация, криоконсервация с последующим размораживанием) образцы перикарда подвергались изучению с помощью просвечивающей электронной микроскопии.

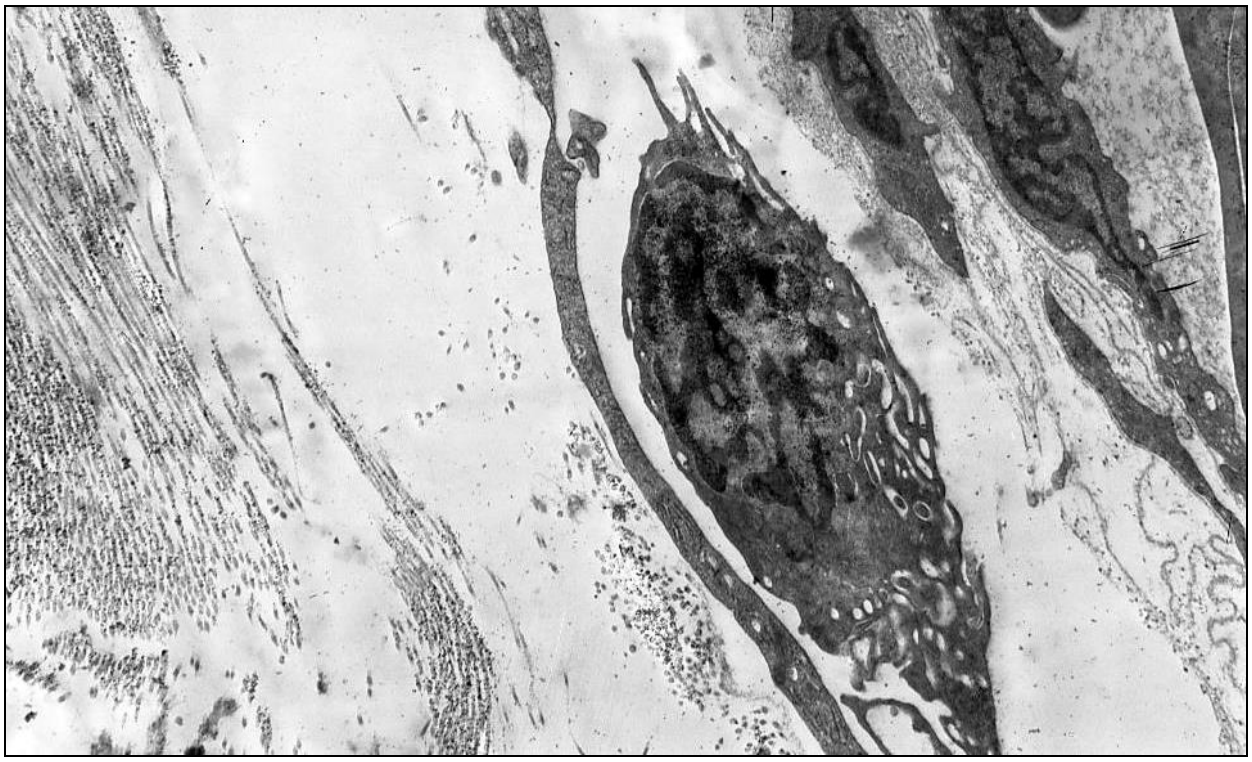

Рисунок 4 – Просвечивающая электронная микроскопия гистологического препарата нативного перикарда человека: фибробласт (в центре снимка) с прилегающими к нему отростками телоцита (увеличение ×6000)

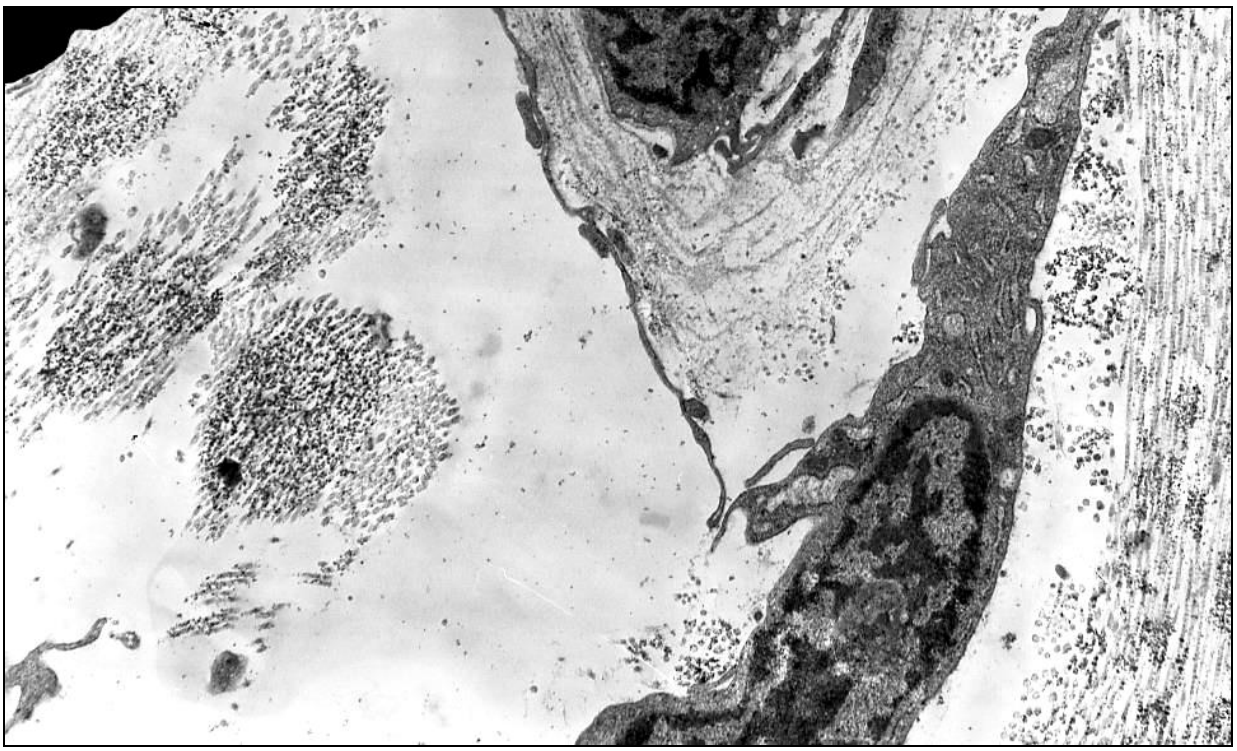

Рисунок 5 – Просвечивающая электронная микроскопия гистологического препарата перикарда человека после стерилизации в растворе антибиотиков: фибробласт (в правой нижней части снимка) вместе с компактно расположенными пучками соединительнотканных волокон (левая часть снимка) (увеличение ×6000)

При проведении исследования во всех трех сериях препаратов были обнаружены живые фибробласты без каких-либо признаков клеточной деструкции (рис. 4, рис. 5 и рис. 6). В то же время, в образцах ткани, подвергшихся криоконсервации с последующим размораживанием, было зарегистрировано снижение компактности расположения соединительнотканных (коллагеновых и эластиновых) волокон (рис. 6).

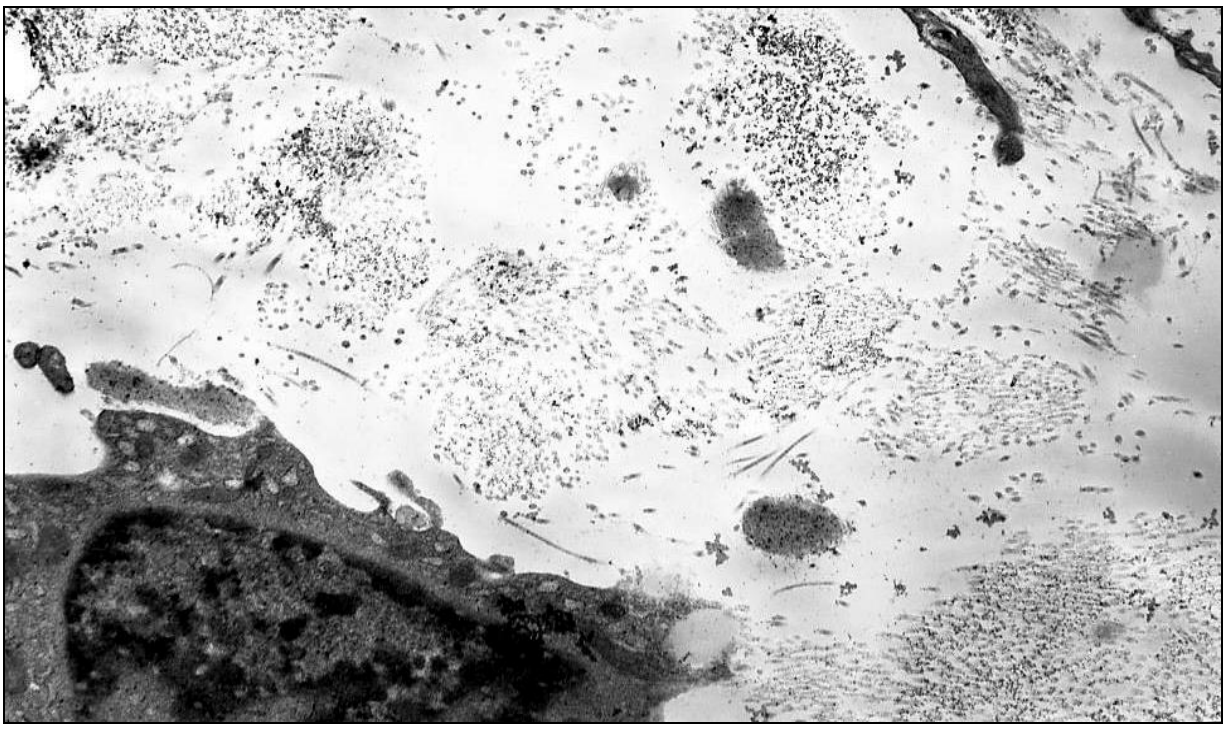

Рисунок 6 – Просвечивающая электронная микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда человека после размораживания: фибробласт (в левой нижней части снимка) вместе с рыхло расположенными пучками соединительнотканных волокон (правая часть снимка) (увеличение ×6000)

Таким образом, результаты просвечивающей электронной микроскопии полностью согласуются с данными, полученными в ходе проведения световой микроскопии биологических образцов.

Прочностно-эластические характеристики биоматериалов

Перед проведением исследования из изучаемых образцов перикарда были вырезаны прямоугольные фрагменты размером 5×60 мм. Их формирование осуществлялось без учета ориентации ткани, принимая во внимание изотропность перикарда. В зависимости от типа и способа фиксации биологической ткани было сформировано 6 групп, в каждой из которых содержалось по 30 образцов:

- нативный человеческий перикард;
- криоконсервированный человеческий перикард;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 0,625% р-ром глютаральдегида в течение 20 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 2% р-ром глютаральдегида (ГА) в течение 5 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 96% этанолом (ЭТ) в течение 10 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 96% этанолом (ЭТ) в течение 20 минут;
- перикардиальная заплата «Биокард» (телячий перикард);
- перикардиальная заплата «Vascutek» (свиной перикард).

Толщина (t) каждого из образов была измерена микрометром (шкала 0,01 мм) в 3-х различных точках с последующим расчетом среднего значения. Длина участка ткани между зажимами разрывной машины поддерживалась на уровне 10 мм. Таким образом, эффективный размер каждого исследуемого образца составил 5×10 мм, что соответствует соотношению сторон 2:1. После фиксации в зажимах универсальной разрывной машины Zwick/Roell (Zwick, США), перед началом исследования каждый из образцов подвергся преднагрузке размером 0,01 Н путем его растяжения со скоростью 10 мм/мин. Дальнейшее изучение прочностно-

эластических характеристик материалов производилось с помощью растяжения образцов со скоростью 10 мм/мин.

Исследование прекращалось после снижения создаваемого на образец ткани напряжения более чем на 20% от максимально зарегистрированного значения. На основании полученных результатов для каждого из исследуемых образцов было произведено построение диаграммы напряжение–деформация.

При проведении анализа в подобных диаграммах выделяют четыре основные фазы: эластическая фаза, переходная фаза, коллагеновая фаза и фаза разрыва. Во время эластической фазы ткань демонстрирует относительно небольшую устойчивость к деформации (растяжению), так как сопротивление обеспечивается главным образом эластическими волокнами. В переходной фазе происходит последовательная передача нагрузки на коллагеновые волокна, что сопровождается их постепенным выпрямлением. Во время коллагеновой фазы наклон кривой напряжение-деформация максимально крут и практически постоянен. Благодаря коллагеновым волокнам ткань на данном этапе демонстрирует максимальную устойчивость к деформации в условиях постоянно растущего напряжения. С уменьшением крутизны наклона кривой напряжение-деформация начинается фаза разрыва, в течении которой постепенное увеличение нагрузки приводит к повреждению (разрыву) образца.

Для сравнения прочностно-эластических характеристик различных типов ткани проводился анализ двух основных параметров каждой из диаграмм напряжение-деформация:

- σ_{max} – максимальное напряжение (MPa) на разрыв;
- ε_{max} – максимальная деформация (%) на разрыв.

При выполнении исследования различных образцов перикарда с помощью униаксиального теста на разрыв было установлено, что процесс

криоконсервации по разработанной программе не влияет на прочностно-эластические характеристики (максимальное напряжение и максимальную деформацию (растяжение), p=0,122921 и p= 0,069750, соответственно) ткани.

Таблица 1 – Результаты изучения прочностно-эластических характеристик различных образцов перикарда

Тип образца ткани	**t, мм**	**σ_{max}, МПа**	**ε_{max}, %**
НП	0,25±0,037	9,9±3,14	37,7±9,03
КП	0,25±0,041	10,7±3,67	47,4±12,48
КП + 96% ЭТ (10 мин)	0,24±0,030	14,8±5,11	40,8±8,72
КП + 96% ЭТ (20 мин)	0,27±0,026	13,5±4,36	40,9±6,11
КП + 0,625% ГА	0,21±0,045	14,0±6,15	50,2±15,51
КП + 2,0% ГА	0,27±0,028	17,1±5,64	55,5±12,49
перикардиальная заплата «Биокард»	0,30±0,037	13,0±4,67	83,0±35,24
перикардиальная заплата «Vascutek»	0,15±0,017	14,0±5,62	39,6±7,58

Также было установлено, что любой из способов предимплантационной подготовки криоконсервированного перикарда путем его обработки 96% этанолом либо глютаральдегидом различных концентраций достоверно увеличивает прочность ткани на разрыв. Вместе с тем обработка криоконсервированного аллоперикарда 96% раствором этанола в течение 10 или 20 минут достоверно позволяет достичь прочности ткани сопоставимой с таковой для перикардиальных заплат «Биокард», «Vascutek», а также перикарда, обработанного 0,625% раствором глютаральдегида. В свою очередь, отказ от использования глютаральдегида на любом из этапов подготовка пластического материала позволяет снизить вероятность материалозависимых осложнений в отдаленном периоде в виде избыточного кальциноза ткани.

Однако в отличие от предыдущей характеристики (σ_{max}), устойчивость ткани к деформации (ε_{max}) в данном случае рассчитывалась без поправки на толщину образца, которая имела место быть. Возможно, именно этот факт и обуславливает отсутствие четких закономерностей в различиях показателя эластичности (максимальной деформации на разрыв) между различными образцами перикарда.

Устойчивость биоматериалов к ферментативному лизису

С целью сравнительной оценки структурной стабильности перикарда, фиксированного различными способами, проводилось его исследование на устойчивость к ферментативному лизису. В зависимости от типа и способа фиксации ткани было сформировано 5 групп, в каждой из которых содержалось по 5 образцов размером 2 $см^2$:

- криоконсервированный человеческий перикард;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 0,625% р-ром глютаральдегида в течение 20 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 2% р-ром глютаральдегида в течение 5 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 96% этанолом в течение 10 минут;
- криоконсервированный человеческий перикард, обработанный 96% этанолом в течение 20 минут;
- перикардиальная заплата «Биокард» (телячий перикард);
- перикардиальная заплата «Vascutek» (свиной перикард).

Перед проведением исследования каждый из образцов материала был последовательно отмыт в физиологическом растворе (10 мин) и дистиллированной воде (3 мин), а затем помещен в термостат на 12 часов при температуре 70°С для высушивания. После завершения данного этапа образцы ткани взвешивались на электронных весах с точностью до 0,0001 г. Затем они помещались в небольшие стеклянные емкости, содержащие раствор коллагеназы (SERVA, Германия), выделенной из культуры Clostridium Histolyticum, на бикарбонатном буфере (pH 7,4). В данном растворе материал инкубировался в термостате на протяжении 72 часов при температуре 37°С. После окончания инкубирования каждый образец тщательно промывался в 1000 мл дистиллированной воды в течение 10 мин. Затем материал повторно помещался в термостат на 12 часов при

температуре 70°С для высушивания, после чего проводилось его взвешивание на электронных весах с точностью до 0,0001 г.

Резистентность исследуемого биологического материала к ферментативному лизису рассчитывалась в виде остаточной массы образца, выраженной в процентах по отношению к его исходной массе. Результаты эксперимента отражены в таблице 2 (медиана, 25% и 75% квартили).

Таблица 2 – Результаты изучения различных образцов перикарда на устойчивость к ферментативному лизису

Тип образца ткани	**Остаточная масса, %**
КП	84,5 [79,6÷86,1]
КП + 96% ЭТ (10 мин)	86,1 [83,4÷87,0]
КП + 96% ЭТ (20 мин)	89,6 [86,2÷93,3]
КП + 0,625% ГА	94,2 [86,2÷97,2]
КП + 2,0% ГА	95,0 [93,3÷96,2]
перикардиальная заплата «Биокард»	97,0 [95,2÷99,2]
перикардиальная заплата «Vascutek»	92,5 [85,2÷95,0]

Из представленных данных видно, что применение глютаральдегида либо 96% спирта в течение 20 мин достоверно увеличивают устойчивость криоконсервированного перикарда к ферментативному лизису.

IN VIVO ИССЛЕДОВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОГО АЛЛОПЕРИКАРДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Подкожная имплантация криоконсервированного аллоперикарда животным с целью изучения дистрофического кальциноза

С целью изучения процессов дистрофического кальциноза in vivo проводился эксперимент ускоренной кальцификации путем подкожной имплантации биологического материала молодым (3-5 недель) самцам лабораторных крыс линии Вистар (100-120 г). Все операции проводились в условиях внутрибрюшинного тиопенталового наркоза. Подкожная имплантация образцов (1×0,5 см) биологического материала с соблюдением правил асептики и антисептики производилась через выполненный по паравертебральной линии разрез 1 см с последующим ушиванием послеоперационной раны. Каждому животному было имплантировано по четыре разных образца биологического материала:

- I - криосохраненный человеческий перикард (КП);
- II - криосохраненный человеческий перикард, фиксированный в 96% этаноле в течение 10 мин (КП + 96% ЭТ (10 мин));
- III - криосохраненный человеческий перикард, фиксированный в 0,625% растворе глютаральдегида в течение 20 мин (КП + 0,625% ГА);
- IV – перикардиальная заплата «Биокард» (телячий перикард).

С целью удаления остатков фиксирующих либо консервирующих реагентов каждый из образцов биологического материала перед подкожной имплантацией животному был промыт в 0,9% растворе NaCl по 5 мин.

Животные выводились из эксперимента через полтора месяца. Затем извлеченные после подкожной имплантации животным образцы биологических материалов прошли процесс пробоподготовки по методу полного извлечения кальция и его количественного переноса в раствор. Эксплантированные образцы очищались от окружающих тканей и капсулы, ополаскивались в физиологическом растворе и помещались в емкости с 96% этанолом для дегидратации на 24 часа. В дальнейшем пробы подвергались

лиофильной сушке в эксикаторе над серной кислотой в течение суток при давлении 10-12 мм рт. ст.

Обезвоженные образцы тщательно взвешивались, а затем растворялись в 1 мл концентрированной азотной кислоты при нагревании в водяной бане. Таким образом, достигалось количественное (полное) извлечение кальция в раствор. Определение содержания кальция в полученных образцах осуществлялось методом атомно-адсорбционной спектрометрии. В качестве контроля использовались нативные образцы тканей.

Учитывая тот факт, что различия результатов исследования оказались достоверными ($p<0,05$) только для криоконсервированного перикарда, обработанного глютаральдегидом, можно говорить лишь о тенденции поведения материала после его имплантации в растущий организм (табл. 3). Тем не менее, полученные данные согласуются с проведенными ранее исследованиями других авторов. В частности, использование глютаральдегида без последующей антикальциевой обработки материала достоверно сопровождается повышением степени дистрофического кальциноза.

Таблица 3– Результаты изучения различных образцов перикарда на устойчивость к накоплению кальция

Тип образца ткани	**Содержание Ca, мкг/мг**
НП	10,6 [8,2÷11,4]
КП	15,7 [12,9÷17,2]
КП + 96% ЭТ (20 мин)	14,3 [7,9÷16,0]
КП + 0,625% ГА	121,5 [88,6÷159,4]*
перикардиальная заплата «Биокард»	17,8 [11,3÷21,6]

** – различия достоверны по отношению ко всем группам ($p<0,05$)*

Вместе с тем, криоконсервированный перикард с обработкой 96% этанолом в течении 20 минут подвергся накоплению кальция в меньшей степени, чем тот же материал без нее. Это позволяет предположить, что использование этанола в процессе подготовки материала может являться вариантом его антикальциевой обработки, который к тому же способствует улучшению его прочностно-эластических характеристик.

Имплантация криоконсервированного аллоперикарда в кровоток в эксперименте

С целью изучения аллоперикарда in vivo была произведена его имплантация в инфраренальный отдел брюшной аорты и нижней полой вены 18 беспородных собак. Все хирургические вмешательства проводились в условиях внутривенного тиопенталового наркоза с соблюдением правил асептики и антисептики. Доступ к брюшной аорте и нижней полой вене осуществлялся путем выполнения нижнесрединной лапаротомии. После пережатия брюшной аорты ниже уровня отхождения почечных артерий и выше уровня бифуркации, выполнялось ее пересечение с последующим протезированием предварительно изготовленным из перикарда цилиндрическим протезом (*l≈1,5-2 см*). При формировании протеза более гладкая (покрытая мезотелием) поверхность перикарда обращалась внутрь. Далее аналогичным образом выполнялось протезирование инфраренального отдела нижней полой вены. Формирование артериального анастомоза осуществлялось с помощью непрерывного обвивного шва нитью Prolene 5-0, венозного – нитью Prolene 7-0. В зависимости от вида имплантируемого перикарда и способа его предварительной обработки животные были разделены на 4 группы:

I криоконсервированный аллоперикард (собачий);

II криоконсервированный аллоперикард (собачий) с последующей обработкой 96% р-ром этанола в течение 20 мин;

III криоконсервированный аллоперикард (собачий) с последующей обработкой 0,625% р-ром глютаральдегида в течение 20 мин;

IV криоконсервированный ксеноперикард (человеческий) с последующей обработкой 0,625% р-ром глютаральдегида в течение 20 мин.

Антиагрегантная терапия в раннем послеоперационном периоде (1-2 послеоперационные сутки) проводилась с помощью аспирина (5 мг/кг внутрь

1 раз/сут), профилактика инфекционных осложнений – цефазолина (80 мг/кг внутримышечно 2 раз/сут).

Животные выводились из эксперимента спустя 1, 3 и 6 месяцев после имплантации биоматериала путем внутривенной инъекции тиопентала натрия в сверхтерапевтической дозе. Макроскопическое изучение изъятого из магистральных сосудов трансплантата заключалось в визуальной оценке:

- проходимости сосудистого протеза;
- состояния его внутренней поверхности;
- наличие аневризмообразования.

После этого материал помещался в 10% раствор формалина на фосфатном буфере (pH 7,4) и в дальнейшем подвергался световой микроскопии.

Результаты макроскопической оценки сосудистых протезов, изъятых из артериального и венозного русла животного во время аутопсии, отражены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты макроскопической оценки имплантированных в артериальный и венозный кровоток собаки образцов перикарда

Группа	**Вид перикарда**	**Результат**	
		артериальное русло	**венозное русло**
I	криоконсервированный аллоперикард (собачий)	-	проходимость протеза – 100% пристеночный тромбоз – 0% наличие аневризмы – 0%
II	криоконсервированный аллоперикард	проходимость протеза – 100%	проходимость протеза – 100%

	(собачий), обработанный 96% этанолом в течение 20 мин (n=3)	пристеночный тромбоз – 0% наличие аневризмы – 0%	пристеночный тромбоз – 0% наличие аневризмы – 0%
III	криоконсервированный аллоперикард (собачий), обработанный 0,625% р-ром ГА в течение 20 мин (n=6)	проходимость протеза – 100% пристеночный тромбоз – 16,7% наличие аневризмы – 0%	проходимость протеза – 100% пристеночный тромбоз – 33,3% наличие аневризмы – 0%
IV	криоконсервированный ксеноперикард (человеческий), обработанный 0,625% р-ром ГА в течение 20 мин (n=6)	проходимость протеза – 100% пристеночный тромбоз – 33,3% наличие аневризмы – 0%	проходимость протеза – 83,3% пристеночный тромбоз – 50,0% наличие аневризмы – 0%

В дальнейшем все эксплантированные сосудистые протезы были подвержены тщательному гистологическому исследованию с помощью световой микроскопии.

Световая микроскопия образцов перикарда после имплантации в артериальный кровоток в эксперименте

Криоконсервированный аллоперикард (собачий), обработанный 96% этанолом в течении 20 мин.

На изучаемых гистологических препаратах (рис. 7 и рис. 8) не обнаружено признаков активного периваскулярного воспаления, а коллагеновые волокна перикарда располагаются достаточно компактно. Вместе с тем, на внутренней поверхности сосудистых протезов можно обнаружить эпителиальные клетки, располагающиеся в один слой (возможно остатки мезотелия либо неоинтимальный покров).

Криоконсервированный аллоперикард (собачий), обработанный 0,625% р-ром глютаральдегида в течении 20 мин.

Как и в предыдущем случае в исследуемом материале (рис. 9) отсутствуют признаки активного воспаления. В то же время можно отметить более компактное расположение коллагеновых волокон перикарда, что, безусловно, является результатом применения глютаральдегида. Эпителиальный покров внутренней поверхности сосудистого протеза практически отсутствуют, а в некоторых гистологических препаратах (рис. 9) определяются признаки пристеночного тромбоза.

Криоконсервированный ксеноперикард (человеческий), обработанный 0,625% р-ром глютаральдегида в течении 20 мин.

На гистологических препаратах эксплантированного из артериального кровотока пластического материала четко видны признаки воспалительного

процесса, сопровождающегося клеточной инфильтрацией стенки сосудистого протеза и окружающих тканей (рис. 10, рис. 11). Кроме того, отмечается более рыхлое расположение коллагеновых волокон, что может являться результатом интерстициального отека.

Наряду с отсутствием эпителиального покрова внутренней поверхности протеза, участки пристеночного тромбоза выраженнее и выглядят более организованно (рис. 10 и рис. 11).

Световая микроскопия образцов перикарда после имплантации в венозный кровоток в эксперименте

Криоконсервированный аллоперикард (собачий).

На изучаемых гистологических препаратах (рис. 12 и рис. 13) отсутствуют признаки периваскулярного воспаления, определяется компактное расположение коллагеновых волокон перикарда. Эпителиальный покров внутренней поверхности сосудистого покрова четко прослеживается практически на всем протяжении, чего не наблюдалось ранее.

Криоконсервированный аллоперикард (собачий), обработанный 96% этанолом в течении 20 мин.

Морфологическая картина, полученная в ходе гистологического исследования препаратов криоконсервированного перикарда собаки, обработанных 96% этанолом и имплантированных в венозное русло животного (рис. 14 и рис. 15), практически полностью соответствует предыдущему описанию, за исключением лишь менее выраженной эпителиальной выстилки внутренней поверхности сосудистого протеза.

Криоконсервированный аллоперикард (собачий), обработанный 0,625% р-ром глютаральдегида в течении 20 мин.

В исследуемом материале (рис. 16, рис. 17, рис. 18 и рис. 19) не наблюдается признаков активного воспаления. Эпителиальный покров внутренней поверхности сосудистого протеза отсутствуют (рис. 16), а в некоторых гистологических препаратах определяются признаки протяженного тромбоза (рис. 17). Вместе с тем, отличительной чертой

препаратов из данной группы является обнаружение на некоторых из них выраженного разрастания неоинтимальной ткани (рис. 18 и рис. 19). Морфологически она отличается от пристеночного тромба (рис. 17) более организованным строением и отсутствием в своей структуре эритроцитов.

Криоконсервированный ксеноперикард (человеческий), обработанный 0,625% р-ром глютаральдегида в течении 20 мин.

На гистологических препаратах четко видны признаки воспалительного процесса, сопровождающегося клеточной инфильтрацией стенки сосудистого протеза и окружающих тканей (рис. 20). Как и в случае с аналогичными образцами материала, имплантированными в артериальное русло животного, отмечается достаточно рыхлое расположение соединительнотканных волокон перикарда, что так же может являться результатом интерстициального отека.

Имплантация криоконсервированного аллоперикарда в серозную полость в эксперименте

Имплантация криоконсервированного аллоперикарда в брюшную полость беспородных собак с целью профилактики образования спаек производилась тем же животным что и в предыдущем эксперименте после завершения протезирования инфраренальных отделов брюшной аорты и нижней полой вены. Для имплантации в брюшную полость использовался материал, аналогичный вышеописанному исследованию.

Образцы перикарда размером 3×3 см шестью одиночными швами Prolene 5-0 фиксировались к передней брюшной стенке по обе стороны от лапаротомного разреза. Материал имплантировался таким образом, чтобы его более гладкая (покрытая мезотелием) поверхность была обращена к брюшной полости и кишечнику животного, а другая непосредственно прилегала к передней брюшной стенке. После этого выполнялось послойное ушивание послеоперационной раны.

В качестве контроля эффективности предотвращения образования спаек между органами брюшной полости и передней брюшной стенкой были использованы 3 беспородные собаки, прооперированные без имплантации перикарда в брюшную полость. Моделирование спаечного процесса у данных животных производилось путем выполнения нижнесрединной лапаротомии с последующим проведением легкой десерозации петель тонкой кишки в проекции операционной раны марлевым тупфером. На внутреннюю поверхность передней брюшной стенки накладывалось шесть одиночных швов Prolene 5-0 по три с каждой стороны от лапаротомного разреза. После этого выполнялось послойное ушивание послеоперационной раны.

Как уже было отмечено ранее, животные выводились из эксперимента через 1, 3 и 6 месяцев. На аутопсии производилась визуальная оценка интенсивности и протяженности спаечного процесса в условных баллах.

Интенсивность процесса: 0 – спайки отсутствуют; 1 – легкие спайки (разделяются тупым путем); 2 – спайки умеренной жесткости (разделяются тупым и острым путем); 3 – грубые спайки (разделяются исключительно острым путем).

Протяженность: 0 – спайки отсутствуют; 1 – локальный процесс (<1/3 поверхности заплаты участвует в образовании спаек); 2 – умеренное вовлечение в процесс (от 1/3 до 2/3 поверхности заплаты участвует в образовании спаек); 3 – распространенный процесс (>2/3 поверхности заплаты участвует в образовании спаек).

Таблица 5 – Результаты макроскопической оценки имплантированных в брюшную полость собаки образцов перикарда

Группа	**Вид перикарда**	**Результат**
I	криоконсервированный аллоперикард (собачий) (n=3)	интенсивность спаечного процесса: «0» – 66,7% «1» – 33,3% «2» – 0% «3» – 0% протяженность спаечного процесса: «0» – 66,7% «1» – 0% «2» – 33,3% «3» – 0%
II	криоконсервированный аллоперикард (собачий), обработанный 96% этанолом в течение 20 мин (n=3)	интенсивность спаечного процесса: «0» – 100% «1» – 0% «2» – 0% «3» – 0% протяженность спаечного процесса: «0» – 100%

Группа	Вид перикарда	Результат
		«1» – 0% «2» – 0% «3» – 0%
III	криоконсервированный аллоперикард (собачий), обработанный 0,625% р-ром ГА в течение 20 мин (n=6)	интенсивность спаечного процесса: «0» – 66,6% «1» – 16,7% «2» – 16,7% «3» – 0% протяженность спаечного процесса: «0» – 66,7% «1» – 33,3% «2» – 0% «3» – 0%
IV	криоконсервированный ксеноперикард (человеческий), обработанный 0,625% р-ром ГА в течение 20 мин (n=6)	интенсивность спаечного процесса: «0» – 66,6% «1» – 16,7% «2» – 0% «3» – 16,7% протяженность спаечного процесса: «0» – 66,6% «1» – 16,7% «2» – 16,7% «3» – 0%

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведения исследования была разработана технология и непосредственно программа криоконсервации тканей, позволяющая осуществлять долгосрочное хранение аллоперикарда без применения каких-либо агрессивных химических веществ. Последующий детальный анализ замороженных с ее помощью образцов перикарда подтвердил отсутствие существенных нарушений гистологической структуры ткани. Помимо световой и просвечивающей электронной микроскопии это было подтверждено и результатами исследования прочностно-эластических характеристик нативного и криоконсервированного перикарда, а именно отсутствием достоверных различий между ними.

Криоконсервированный аллоперикард представляет собой пластический материал на основе человеческих тканей. Эта особенность выгодно выделяет его из абсолютного большинства существующих на сегодняшний день аналогичных изделий, так как последние представляют собой либо синтетический материал, либо ткани животных (свиные, лошадиные, телячьи и т.д.). Их «чужеродность» по отношению к человеческому организму способствует более интенсивной воспалительной реакции на границе ткань-трансплантат, что, несомненно, снижает потенциал роста органа (части органа) пациента в зоне оперативного вмешательства за счет формирования более выраженного фиброзного рубца. Подобные изменения были обнаружены и в наших исследованиях. Данная особенность чрезвычайно важна в детской хирургии и кардиохирургии, в частности.

Известно, что в зависимости от предполагаемого места имплантации к пластическому материалу могут предъявляться определенные требования, в том числе связанные с его прочностными характеристиками. Так, например, заплата, вшитая в артериальный сосуд, должна обладать большей устойчивостью к растяжению и разрыву, чем та, которая имплантируется в верхнюю полую вену. Данный факт диктует необходимость использования каких-либо вариантов предимплантационной подготовки изначально

«недостаточно грубых» для артериальной позиции (коим является и криоконсервированный аллоперикард) материалов с целью повышения их прочности. В ходе проведения исследования нами были проанализированы результаты применения для этих целей глютаральдегида и этанола в различных концентрациях и вариантах времени экпозиции. По совокупности результатов (обеспечение бóльшей устойчивости к накоплению кальция, придание достаточных прочностно-эластических характеристик и устойчивости к ферментативному лизису) было установлено несомненное преимущество использования 96% этанола с продолжительностью обработки материала равной 20 минутам.

Кроме того, как показали исследования (в частности сканирующая электронная микроскопия) использование глютаральдегида вызывает разрушение сохранившегося мезотелия перикарда с волнистой деформацией поверхности ткани. Это в свою очередь может создавать предпосылки к пристеночному тромбозу сосудистого протеза, выраженность которого будет бóльшей после имплантации материала в венозное русло. Если исходить из предположения о том, что в дальнейшем участки пристеночного тромбоза покрываются неоинтимой, теряющей контакт с сосудистой стенкой после лизирования подлежащего кровяного сгустка, то гипотеза достаточно коррелирует с результатами экспериментального исследования материала in vivo и клинической практикой в целом.

По совокупности всего вышесказанного можно с определенной уверенностью утверждать, что криоконсервированный аллоперикард является весьма перспективным видом пластического материала, использование которого будет сопровождаться хорошими результатами хирургического лечения определенных заболеваний сердца и сосудов.

А его использование при коррекции ряда ВПС, на наш взгляд, более предпочтительно, т.к. позволяет сохранить собственный перикард пациента, что значительно снижает риск повреждения сердца при возможных

повторных операциях на сердце. Особенно когда аутоперикард имеет определенные ограничения в доступности:

- объем реконструкции превышает размеры заплаты из аутоперикарда;
- имеется выраженный спаечный процесс в полости перикарда;
- отсутствие перикарда после предыдущих операций;
- повреждения аутоперикарда.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. A comparison of failure modes of glutaraldehyde treated versus antibiotic preserved mitral valve allografts implanted in sheep / K. Tamura [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1995. – Vol. 110, № 1. – P. 224–238.

2. A comparison of free skin graft, fascia lata, alloderm, bovine pericardium and primary repair in urethrocutaneous fistulas without diversion: an experimental study / A. Ayyildiz [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 2006. – Vol. 82, № 3. – P. 1113–1115.

3. A new antithrombogenic RV PA valved conduit / Y. Ichikawa [et al.] // ASAIO J. – 1994. – Vol. 40, № 3. – P. 714–718.

4. A newly developed porcine heart valve bioprosthesis fixed with an epoxy compound. An experimental evaluation / H.W. Sung [et al.] // ASAIO J. – 1994. –Vol. 40, №2.–P. 192–198.

5. Actuarial versus actual risk of porcine structural valve deterioration / G.L. Grunkemeier [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1994. – Vol. 108, № 4. – P. 709–718.

6. An in vitro diffusion model for the study of calcification of bovine pericardium tissue / B.B. Tomazic [et al.] // J. Pharm. Sci. – 1997. – Vol. 86, № 12. – P. 1432–1438.

7. Anderson, E.T. Long-term follow up of aortic valve replacement with fresh aortic homograft / E.T. Anderson, E.W. Hancock // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1976. – Vol. 72:150–156,.

8. Anselme, K. Inhibition of calcification in vivo by acyl azide cross linking of a collagen glycosaminoglycan sponge / K. Anselme, H. Petite, D.

Herbage // Matrix. – 1992. – Vol. 12, № 4. – P. 264–273.

9. Aortic reconstruction with crimped bovine pericardial conduits / C A. Salles [et al.] // J. Heart Valve Dis. – 1998. – Vol. 7, № 3. – P. 305–312.

10. Aortic valve replacement with cryopreserved aortic allograft. Ten year experience / J.R. Doty [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1998. – Vol. 115, № 2.–P. 371–380.

11. Aortic valve replacement with stentless porcine aortic valves. A ten year experience / T.E. David [et al.] // J. Heart Valve Dis. – 1998. – Vol. 7, № 3. – P. 250–254.

12. Aortic valve replacement with the freestyle stentless xenograft / S. Westaby [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1995. – Vol. 60, № 2. – Suppl. – P. S422–427.

13. Bajpai, P.K. Immunogenicity of tanned tissue valve xenografts / P.K. Bajpai // Biomaterials in reconstructive surgery / ed. L.R. Rubin The C.V. – N.Y.: Mosby Company, 1983. – P. 735–752.

14. Barratt-Boyes, B.G. Homograft aortic valve replacement in aortic incompetence and stenosis / B.G. Barratt-Boyes // Thorax. – 1964. – Vol.19. – P. 131–150.

15. Barratt-Boyes, B.G. Cardiothoracic surgery in the antipodes / B.G. Barratt-Boyes // Thor. Cardiovasc. Surg. – 1979. – Vol. 78. – P. 804–822.

16. Biocompatibility study of a biological tissue fixed with a naturally occurring crosslinking reagent / L.L. Huang [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 1998. – Vol. 42, № 4. – P. 568–576.

17. Biomechanical and ultrastructural comparison of cryopreservation and

a novel cellular extraction of porcine aortic valve leaflets / D.W. Courtman [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 1995. –Vol. 29, № 12. –P. 1507–1516.

18. Biomechanics of glutaradehyde treated porcine aortic roots and valves / K.J. Lockie [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1994. – Vol. 108, № 6. – P. 1037–1042.

19. Calcification of bovine pericardium: glutaraldehyde versus No–React biomodification / A. Abolhoda [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1996. – Vol. 62, № 1. – P. 169–174.

20. Calcium mitigation in bioprosthetic tissues by iron pretreatment. The challenge of iron leaching / S.M. Carpentier [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1995. – Vol. 60, № 2. – P. S332–338.

21. Carpentier Edwards standard porcine bioprosthesis. a 21 year experience / W.R. Jamieson [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1998. – Vol. 66, № 6. – P. S40–43.

22. Chachques, J.C. Current status of valvular surgery / J.C. Chachques, M. Pellerin // Curr. Opin. Cardiol. – 1994. – Vol. 9, № 2. – P. 186–190.

23. Chanda, J. Anticalcification treatment of pericardial prostheses / J. Chanda // Biomaterials. – 1994. – Vol. 15, № 6. – P. 465–469.

24. Chanda, J. Prevention of calcification in glutaraldehyde treated porcine aortic and pulmonary valves / J. Chanda, R. Kuribayashi, T. Abe // Ann. Thorac. Surg. –1997. – Vol. 64, № 4. – P. 1063–1066.

25. Chen, W. Mechanism of efficacy of 2 amino oleic acid for inhibition of calcification of glutaraldehyde pretreated porcine bioprosthetic heart valves / W. Chen, F.J. Schoen, R.J. Levy // Circulation. – 1994. – Vol. 90, № 1. – P. 323–329.

26. Chvapil, M. Effect of collagen crosslinking on the rate of resorption of implanted collagen tubing in rabbits / M. Chvapil, J.A. Owen, D.S. Clark // J. Biomed. Materials Res. – 1977. – Vol. 11, № 2. – P. 297–314.

27. Comparative analysis of glutaraldehyde preserved porcine xenografts and fresh or glutaraldehyde treated human aortic valves by holographic interferometry / A.W. Geiger [et al.] // Cardiovasc. Surg. – 1994. – Vol. 2, № 6. – P. 693–697.

28. Comparison of different anticalcification treatments for stentless bioprostheses / T. Walther [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1998. – Vol. 66, № 6. – P. S249–254.

29. Craig, S.R. The use of bovine internal mammary artery (Bioflow) grafts in coronary artery surgery / S.R. Craig, W.S. Walker // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 1994. – Vol. 8, № 1. – P. 43–15.

30. Degradation potential of biological tissues fixed with various fixatives, an in vitro study / H.W. Sung [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 1997. – Vol. 35, № 2. –P. 147–155.

31. Desai, N.D. Bioprosthetic aortic valve replacement: Stented pericardial and porcine valves// N.D. Desai, Christakis G.T. / Cardiac surgery in the adult // ed. L.H. Cohn – Copyright by McGraw Hill Companies, Inc. – 2008. – P. 857–894.

32. Detoxified glutaraldehyde cross linked pericardium: tissue preservation and mineralization mitigation in a subcutaneous rat model / M. Valente [et al.] // J. Heart Valve Dis. – 1998. – Vol. 7, № 3. – P. 283–291.

33. Early failure of an autologous pericardium aortic heart valve. M. Dahm [et al] // J. Heart Valve Dis. – 1998. – Vol. 7, № 1. – P. 30–33.

34. Epoxy compounds as a new cross linking agent for porcine aortic leaflets, subcutaneous implant studies in rats / E. Imamura [et al.] // J. Cardiac Surg. – 1989. – Vol. 4, №l.–P. 50–57.

35. Evaluation of epoxy ether fixed bovine arterial grafts for mutagenic potential / J.M. Lohre [et al.] // ASAIO J. – 1993. – Vol. 39, № 2. – P. 106–113.

36. Extended survival of a porcine mitral bioprosthesis for 23 years, report of a case / T. Baba [et al] // Surg. Today. – 1999. – Vol. 29, № 6. – P. 573–574.

37. Factors in the early failure of cryopreserved homograft pulmonary valves in children. Preserved immunogenicity? / R.J. Baskett [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1996. – Vol. 112, № 5. – P. 1170–1178.

38. Feasibility evaluation of a new pericardial bioprosthesis with dye mediated photo–oxidized bovine pericardial tissue / R.W. Bianco [et al.] // Journal Of Heart Valve Disease. – 1996. – Vol. 5, № 3. – P. 317–322.

39. Fourteen year experience with homovital homografts for aortic valve replacement / M. Yacoub [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1995. – Vol. 110, №1. – P. 186–193.

40. Girardot, J.M. Amide cross–linking: An alternative to glutaraldehyde fixation / J.M. Girardot, M.N. Girardot // J. Heart. Valve. Dis. – 1996. – Vol. 5. – P.518–525.

41. Girardot, J.M., Amide cross–linking: an alternative to glutaraldehyde fixation / J.M. Girardot, M.N. Girardot // Journal Of Heart Valve Disease. – 1996. – Vol. 5, № 5. – P.518–525.

42. Glutaraldehyde detoxification of aortic wall tissue, a promising perspective for emerging bioprosthetic valve concepts / P. Zilla [et al.] // J. Heart Valve Dis. –1997. – Vol. 6, № 5. – P. 510–520.

43. Glutaraldehyde tanned bovine carotid artery graft for infrainguinal vascular reconstruction. 5 year follow up / R.J. Holdsworth [et al.] // Eur. J. Vase. Endovasc. Surg. – 1997. – Vol. 14, № 3. – P. 208–211.

44. Haemodynamic performance of aortic pericardial bioprostheses and bileaflet prostheses at rest and during exercise. Implications for the surgical management of patients with small aortic roots / J.R. Gonzalez Juanatey [et al.] // Heart. – 1999. – Vol. 82, №2. – P. 149–155.

45. Hemodynamic benefits of the Toronto Stentless Valve / D.F. Del Rizzo [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1996. – Vol. 112, № 6. – P. 1431–1445.

46. Heterologous mitral valve transplant. The first 50 patients clinical analysis / M.P. Vrandecic [et al.] // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 1995. Vol. 9, № 2. – P. 69–73.

47. Homotransplantation of the aortic valve / A.C. Beall [et al.] // Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1961. – Vol. 42. – P. 497–506.

48. Huysmans, H.A. Stentless Bioprostheses / H.A. Huysmans, T.E. David, S. Westaby. // ISIS Medical media. Second Edition. Taylor & Francis e–Library. – 2006. – P. 302–317.

49. Jarrett, F. Long term results of femoropopliteal bypass with stabilized human umbilical vein / F. Jarrett, B.A. Mahood // Am. J. Surg. – 1994. – Vol. 168, № 2. – P. 111–114.

50. Korossis, S. Biomechanics and hydrodynamics of decellularised aortic valves for tissue engineering / S. Korossis // MSc Thesis. The School of Mechanical Engineering, University of Leeds, Leeds, UK. – 2002. – P. 114–120.

51. Korossis, S.A. Tissue engineering of cardiac valve prostheses II:

biomechanical characterization of decellularized porcine aortic heart valves / S.A. Korossis, C. Booth, H.E. Wilcox // J. Heart Valve Dis. – 2002. – Vol.11. – P. 463–471.

52. Late results of clinical experience with small caliber biological grafts / J. Ninomiya [et al.] // Artif. Organs. – 1995. – Vol. 19, № 1. – P. 46–50.

53. Lee, J.M. Mechanical properties of human pericardium. Differences in viscoelastic response when compared with canine pericardium / J.M. Lee, D.R. Boughner // Circulation Research. – 1985. – Vol. 57. – P. 475–481.

54. Long term results of the Carpentier Edwards pericardial aortic valve, a 12 year follow up / M.K. Banbury [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1998. – Vol. 66, № 6. – P. 73–76.

55. Miller, D.C. «Fresh» aortic homografts: long-term results with freehand aortic valve replacement / D.C. Miller // J Cardiac Surg. – 1987. – Vol. 2. – P. 185–191.

56. Mirsadraee, S. Development and characterization of an acellular human pericardial matrix for tissue engineering / S. Mirsadraee, H.E. Wilcox, S.A. Korossis // Tissue Eng. – 2006. – Vol. 12. – P. 763–773.

57. Moore, M.A. Biocompatibility and immunologic properties of pericardial tissue stabilized by dye mediated photooxidation / M.A. Moore, R.E.Jr. Phillips // J. Heart Valve Dis. – 1997. – Vol. 6, № 3. – P. 307–315.

58. Multicenter study of stentless valve replacement in the small aortic root / U. Hvass [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1999. – Vol. 117, № 2. – P. 267–272.

59. Myers, D.J. A comparison between glutaraldehyde and diepoxide fixed stentless porcine aortic valves, biochemical and mechanical characterization

and resistance to mineralization / D.J. Myers, J. Gross, G. Nakaya // J. Heart Valve Dis. – 1995. – Vol. 4, № 1. – P. 98–101.

60. No–react anticalcification tissue treatment results with stentless heart valves in two adolescents / M. Simcha [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1999. –Vol. 117. – P. 1222–1223.

61. Penta, A. Patient status 10 or more years after "fresh" homograft replacement of the aortic valve / A. Penta, S. Qureshi, R. Radley-Smith // Circulation. – 1984. – Vol. 70, № I. – P. 1182–1186.

62. Photo oxidized bovine arterial grafts, short term results / N. Moazami [et al.] // ASAIO J. – 1998. – Vol. 44, № 1. – P. 89– 93.

63. Polyethylene glycol (PEG) modified bovine pericardium as a biomaterial: a comparative study on immunogenicity / S. Aravind [et al.] // J. Biomater. Appl. – 1999. – Vol. 13, № 2. – P. 158–165.

64. Prevention of bioprosthetic heart valve calcification by ethanol preincubation. Efficacy and mechanisms / N. Vyavahare [et al.] // Circulation – 1997. – Vol. 95, №2.–P. 479–488.

65. Prosthetic replacement of the tricuspid valve. Biological or mechanical? / G. Rizzoli [et al.] // Ann. Thorac. Surgery – 1998. – Vol 66, № 6. – Suppl. – P. 62–67.

66. Pulmonary valve replacement in children / E. Saro Servando [et al.] // Ann. Chir. – 1996. – Vol. 50, № 8. – P. 703–706.

67. Rajani, B. Evidence for rejection of homograft cardiac valves in infants / B. Rajani, R.B. Mee, N.B. Ratliff // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1998. – Vol. 115, № l. – P. 111–117.

68. Robicsek, F. The application of biological tissues in cardiac valve surgery. The history of the first two decades./ F. Robicsek // J. Heart Valve Dis. – 1994. – Vol. 3, № 6. – P. 613–626.

69. Ross, D. Homograft replacement of the aortic valve: a critical review / D. Ross, M.H. Yacoub // Prog. Cardiovasc. Dis. – 1969. – Vol. 11. – P. 275–293.

70. Ross, D.N. Homograft replacement of the aortic valve / D.N. Ross // Lancet. –1962. – Vol. 2, № 7254. – P. 487–488.

71. Ross, D.N. The pulmonary autograft, history and basic techniques / D.N. Ross // Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1996. – Vol. 8, № 4. – P. 350–357.

72. Saravalli, O.A. Calcification of aortic homografts used for reconstruction of the right ventricular outflow tract / O.A. Saravalli, J. Somerville, K.E.Jefferseon // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1980. – Vol. 80. – P. 909–920.

73. Sauren, A.A. The mechanical properties of porcine aortic valve tissues / A.A. Sauren, M.C., van Hout A.A. van Steenhoven // J. Biomech. – 1983. – Vol. 16, № 5. – P. 327–337.

74. Schoen, F.J. Tissue heart valves: current challenges and future research perspectives / F.J. Schoen, R.J. Levy // J. Biomed. Mater. Res. – 1999. – Vol. 47, № 4. – P. 439–465.

75. Schoen, F.J. Pathologic findings in explanted clinical bioprosthetic valves fabricated from photooxidized bovine pericardium / F.J. Schoen // J. Heart Valve Dis. – 1998. – Vol. 7, № 2. – P. 174–179.

76. Senning, A. Fascia lata replacement of aortic valves / A. Serming // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1967. – Vol. 54, № 4. – P. 465–470.

77. Shanthi, C. New treatments using alginate in order to reduce the calcification of bovine bioprosthetic heart valve tissue / C Shanthi, K.P. Rao // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. – 1997. – Vol. 8, № 12. – P. 919–930.

78. Shrinkage temperature versus protein extraction as a measure of stabilization of photooxidized tissue / M.A. Moore [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 1996. – Vol. 32, №2. – P. 209–214.

79. Stelzer, P. Pulmonary autograft: an American experience / P. Stelzer, R.C. Elldns // J. Cardiac. Surg. – 1987. – Vol. 2. – P. 429–433.

80. Stelzer, P. Stentless aortic valve replacement: porcine and pericardial. / P. Stelzer // Cardiac surgery in the adult / ed. L.H. Cohn – Copyright by McGraw Hill Companies, Inc., 2008. – P. 915– 934.

81. Stentless aortic valve replacement with the biocor prosthesis, indications and outcome / M. Achtelik [et al.] // J. Heart Valve Dis. – 1996. – № 3. – P. 314–316.

82. Strobel, R. Aneurysm formation in modified human umbilical vein grafts / R. Strobel, A.H. Boontje, J.J. Van Den Dungen // Eur. J. Vase. Endovasc. Surg. – 1996. – Vol. 11, №4. – P. 417–420.

83. Sung, H.W. Effects of various chemical sterilization methods on the crosslinking and enzymatic degradation characteristics of an epoxy fixed biological tissue / H.W. Sung, H.L. Hsu, C.S. Hsu // J. Biomed. Mater. Res. – 1997. – Vol. 37, №3. – P. 376–383.

84. Teply, J.F. The ultimate prognosis after valve replacement: an assessment of twenty years / J.F. Teply, G.L. Grunkemeier, S.H. D'Arcy // Ann. Thorac. Surg. – 1981. – Vol. 32. – P. 111–119.

85. The Carbomedics "Oxford" Photofix stentless valve (PSV) / S.

Westaby [et al.] // Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1999. – Vol. 11, № 4. – P. 206–209.

86. The Hancock II bioprosthesis at 12 years / T.E. David [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1998. –Vol. 66, № 6. – P. 95–98.

87. Thompson, R. The use of "fresh" unstented homograft valves for replacement of the aortic valve / R. Thompson, M.H. Yacoub, M. Ahmed // Thorac. Cardiovasc. Surg. –1980. – Vol. 79. – P. 896–903.

88. Thompson, R. Influence of preoperative left ventricular function on results of homograft replacement of aortic valve for aortic regurgitation / R. Thompson, M. Yacoub, R. Seabra-Gomes // Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1979. – Vol. 77. – P. 411–421.

89. Thompson, R. Influence of preoperative left ventricular function on results of homograft replacement of the aortic valve for aortic stenosis / R. Thompson, M.H. Yacoub, M. Ahmed // Am. J. Cardiol. – 1979. – Vol. 43. – P. 929–938.

90. Time dependent effect of glutaraldehyde on the tendency to calcify of both autografts and xenografts / K. Liao [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1995. – Vol. 60, № 2. – P. 343–347.

91. Tomizawa, Y. Vascular prostheses for aortocoronary bypass graftings A review / Y. Tomizawa // Artif Organs. – 1995. – Vol. 19, № 1. – P. 39–45.

92. Twelve year follow up with the Sorin Pericarbon bioprosthesis in the mitral position / P.P. Caimmi [et al.] // J. Heart Valve Dis. – 1998. – Vol. 7, № 4. – P. 400–406.

93. Use of a bovine jugular vein graft with natural valve for right ventricular outflow tract reconstruction: a one year animal study / Y. Ichikawa [et

al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1997. – Vol. 114, № 2. – P. 224–233.

94. Use of diphenylphosphorylazide for cross linking collagen based biomaterials / H. Petite [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 1994. – Vol. 28, № 2. – P. 159–165.

95. Vasudev, S.C. Glutaraldehyde treated bovine pericardium: changes in calcification due to vitamins and platelet inhibitors / S.C. Vasudev, T. Chandy, C.P. Sharma // Artificial Organs. – 1997. – Vol. 21, № 9. – P. 1007–1013.

96. Vasudev, S.C. The antithrombotic versus calcium antagonistic effects of polyethylene glycol grafted bovine pericardium / S.C. Vasudev, T. Chandy, C.P. Sharma // J. Biomater. Appl. – 1999. – Vol. 14, № 1. – P. 48–66.

97. Wassenaar, C. Cracks in cryopreserved aortic allografts and rapid thawing / C. Wassenaar, E.G. Wijsmuller, L.A. Van Herwerden // Ann. Thorac. Surg. – 1995. – Vol. 60. – P. 165–167.

98. Wengerter, K. Biological vascular grafts / K. Wengerter, H. Dardik // Semin. Vase. Surg. – 1999. – Vol. 12, № 1. – P. 46–51.

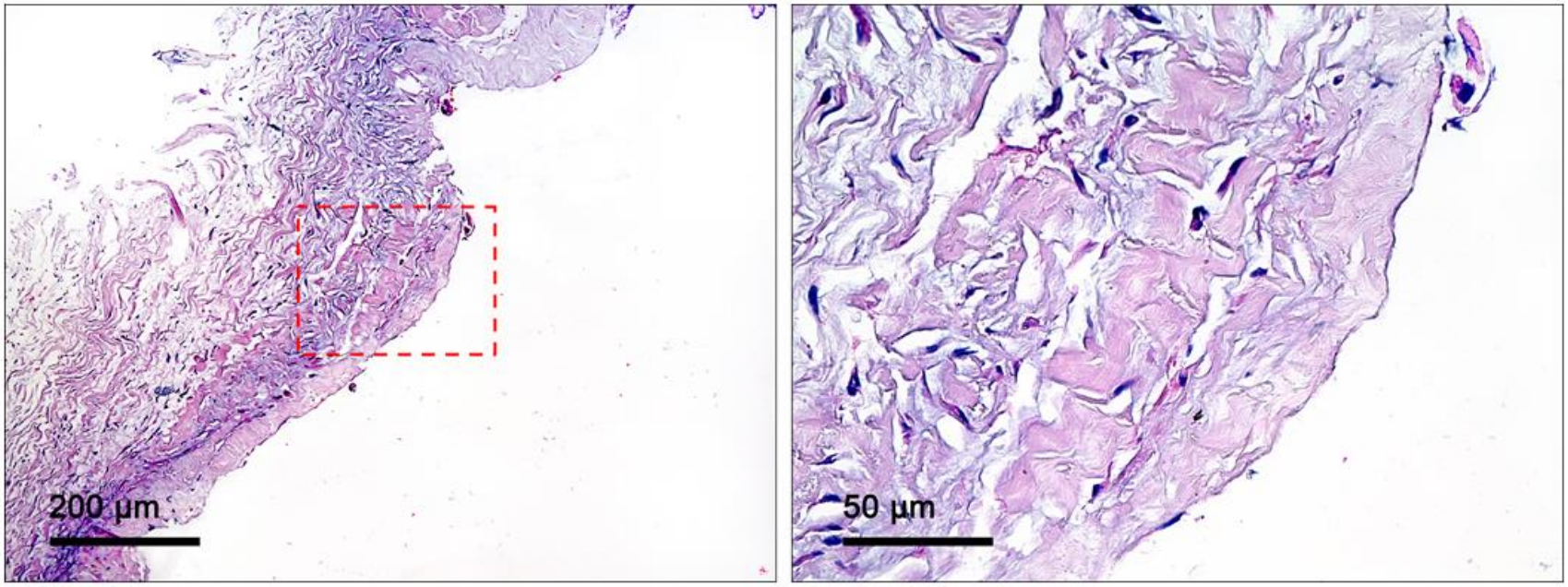

Рисунок 7 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда собаки после обработки 96% этанолом и имплантации в артериальное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

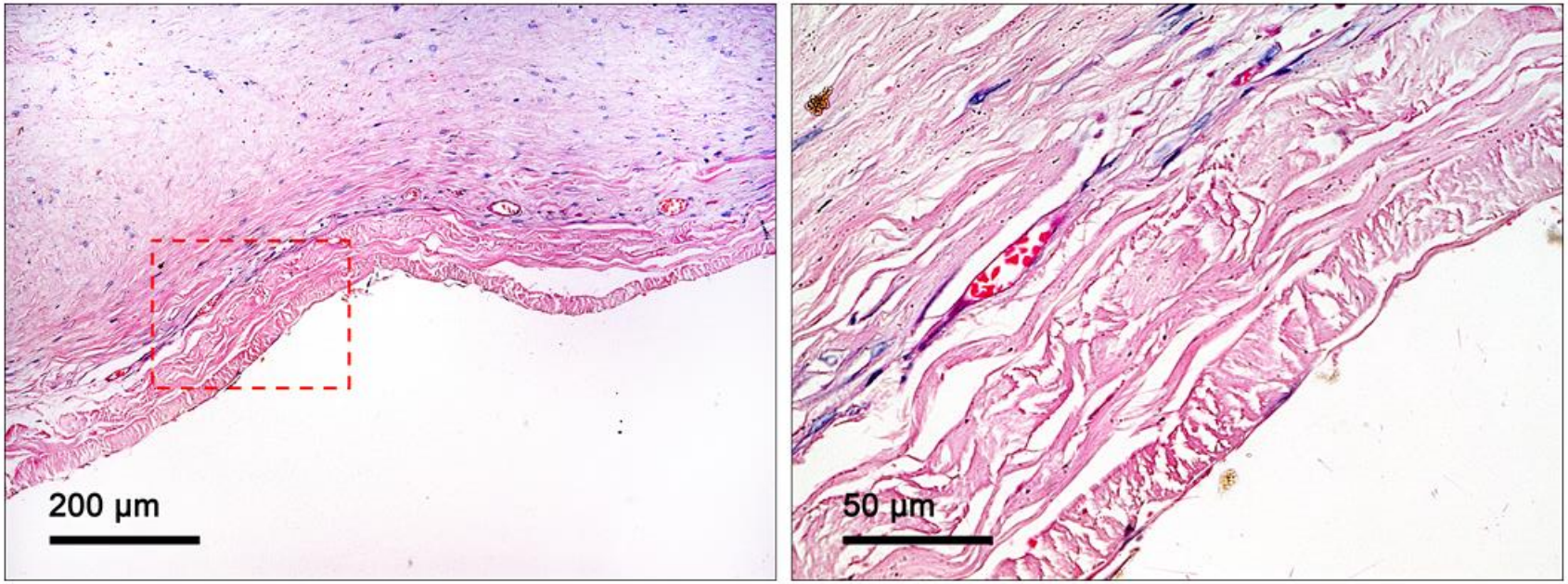

Рисунок 8 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда собаки после обработки 96% этанолом и имплантации в артериальное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

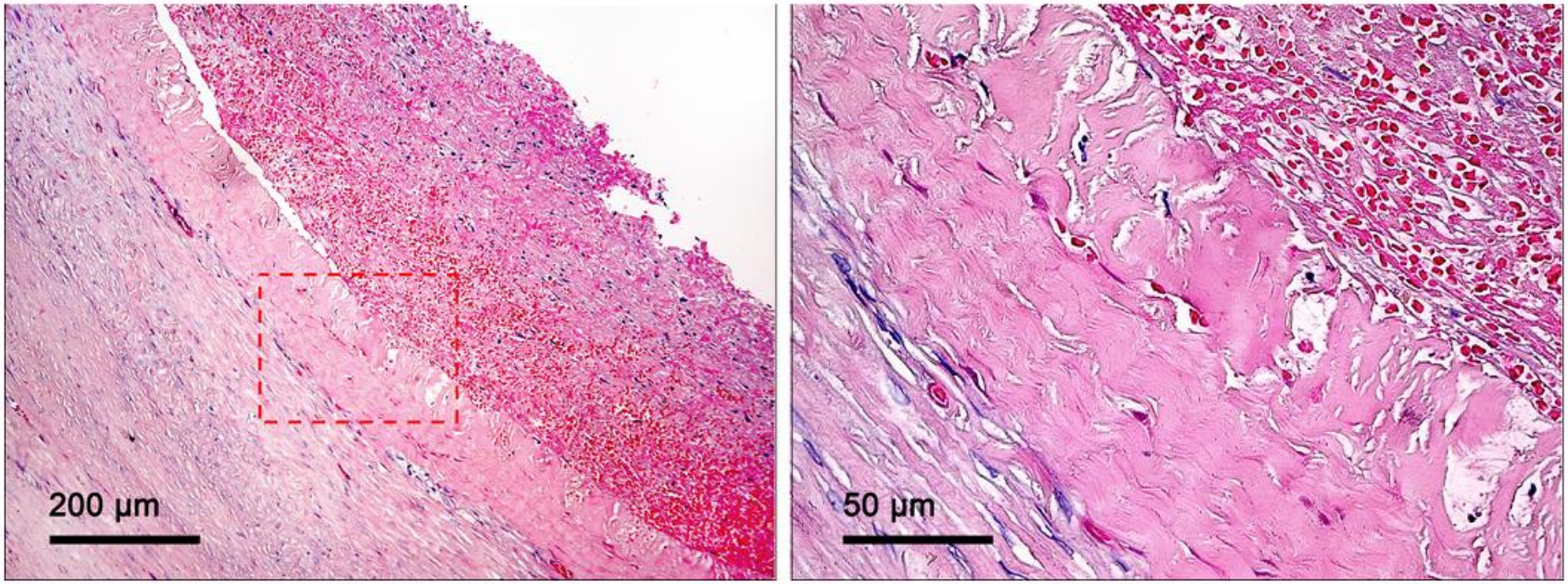

Рисунок 9 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда собаки после обработки 0,625% р-ром глютаральдегида и имплантации в артериальное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

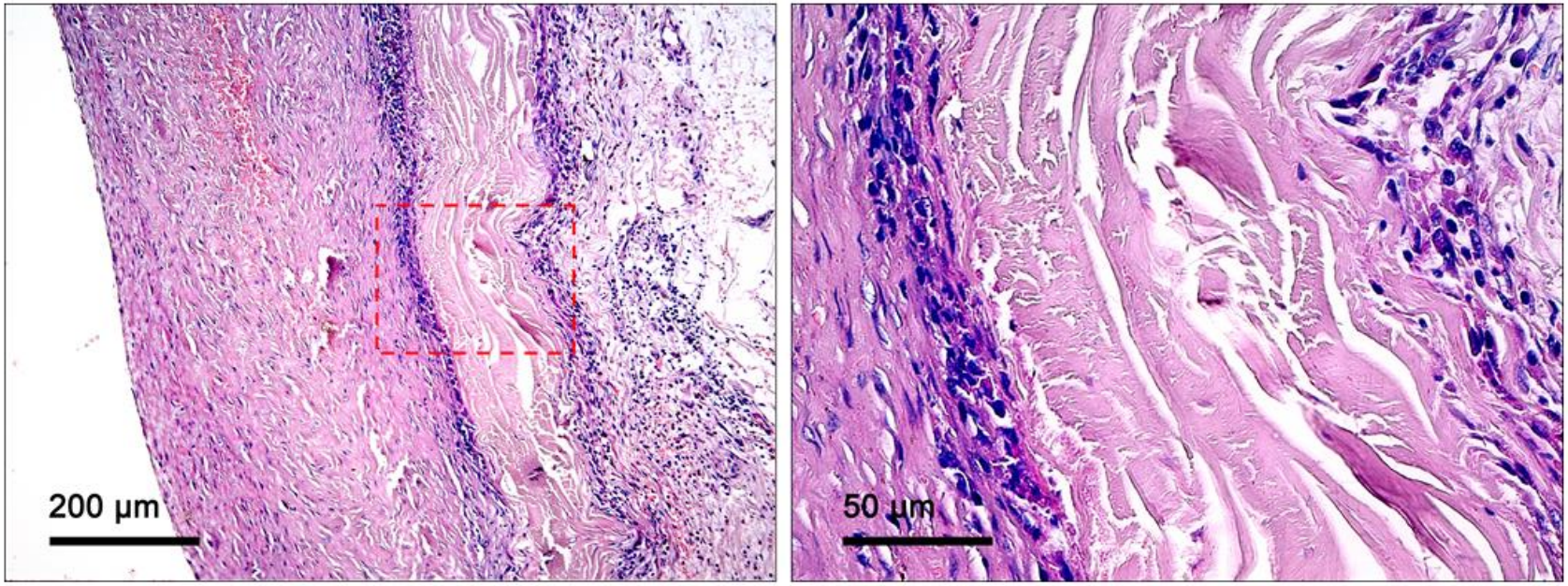

Рисунок 10 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда человека после обработки 0,625% р-ром глютаральдегида и имплантации в артериальное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

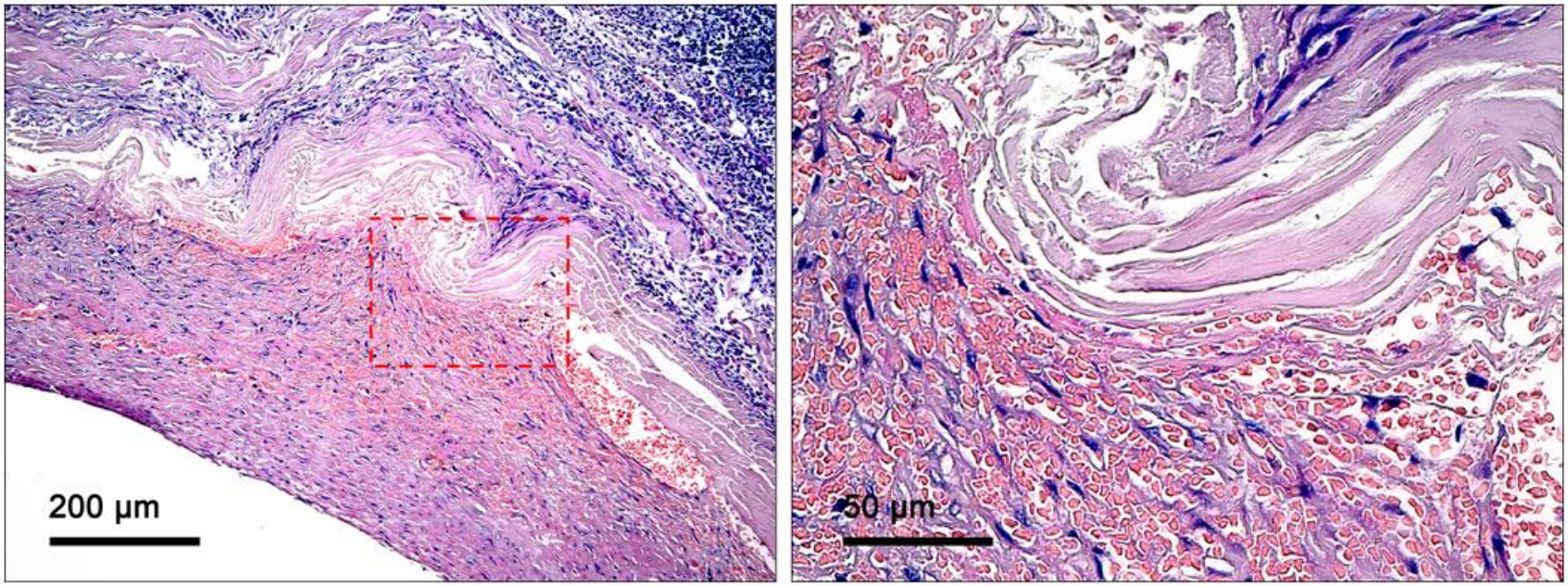

Рисунок 11 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда человека после обработки 0,625% р-ром глютаральдегида и имплантации в артериальное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

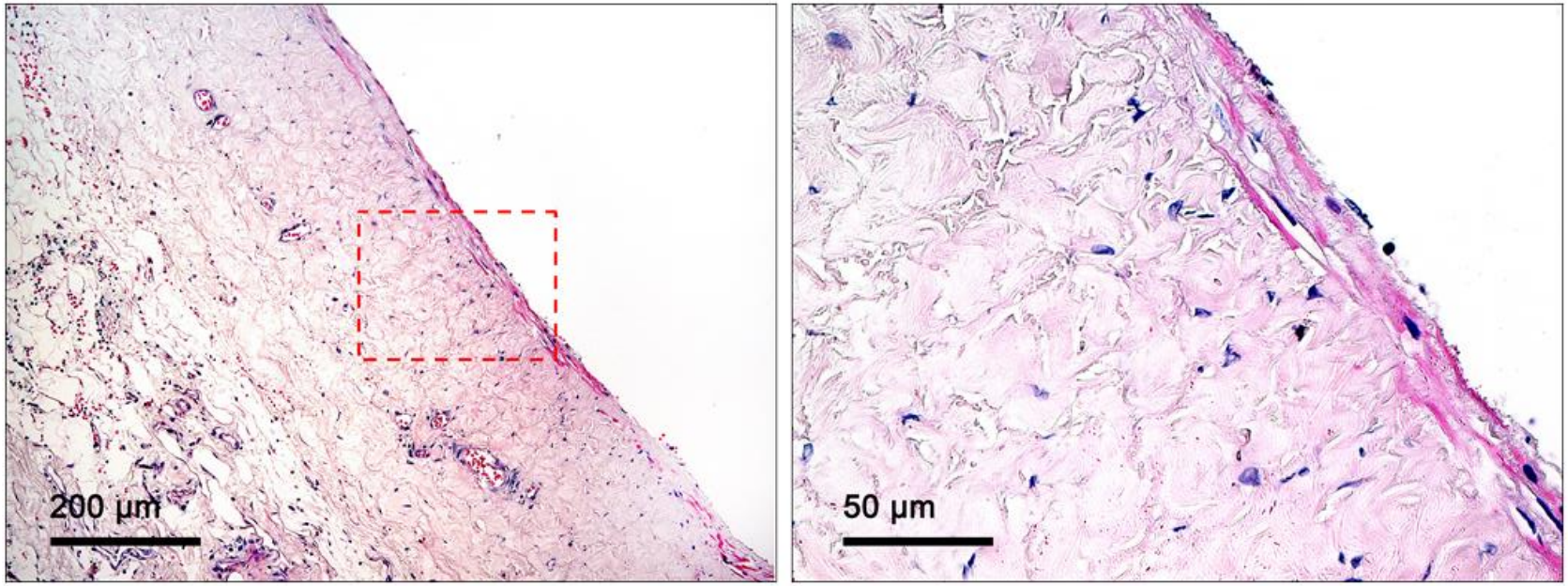

Рисунок 12 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда собаки после имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

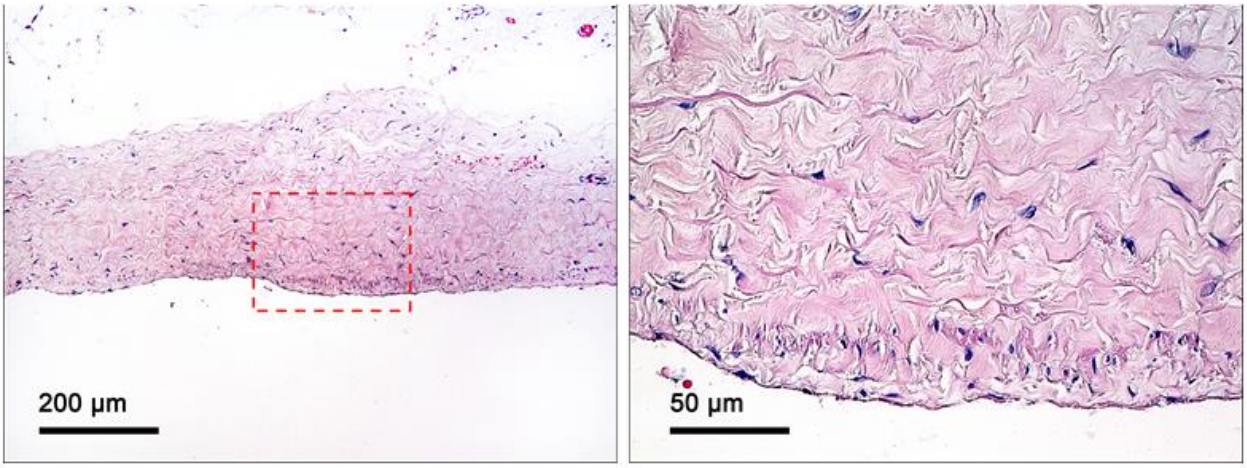

Рисунок 13 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда собаки после имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

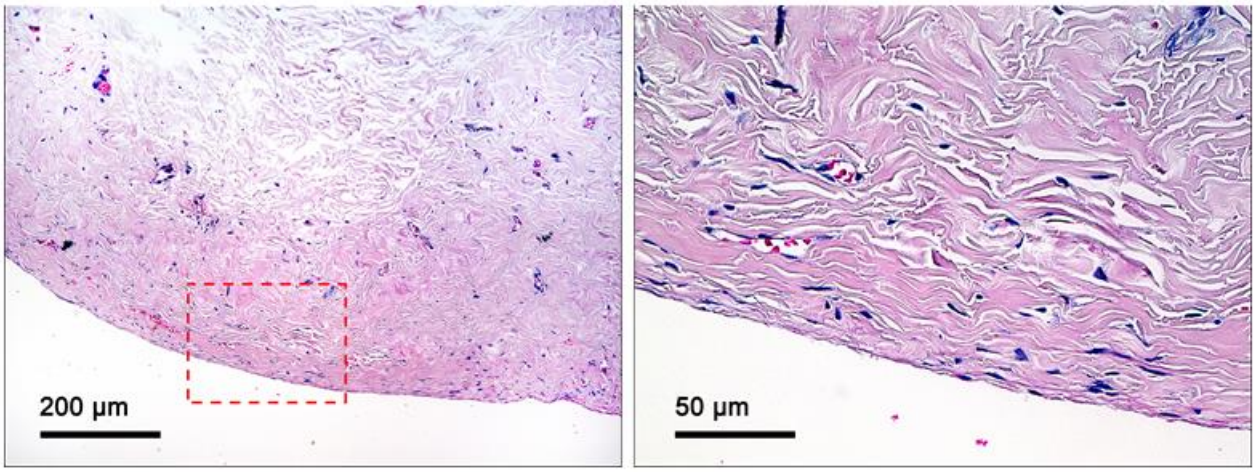

Рисунок 14 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда собаки после обработки 96% этанолом и имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

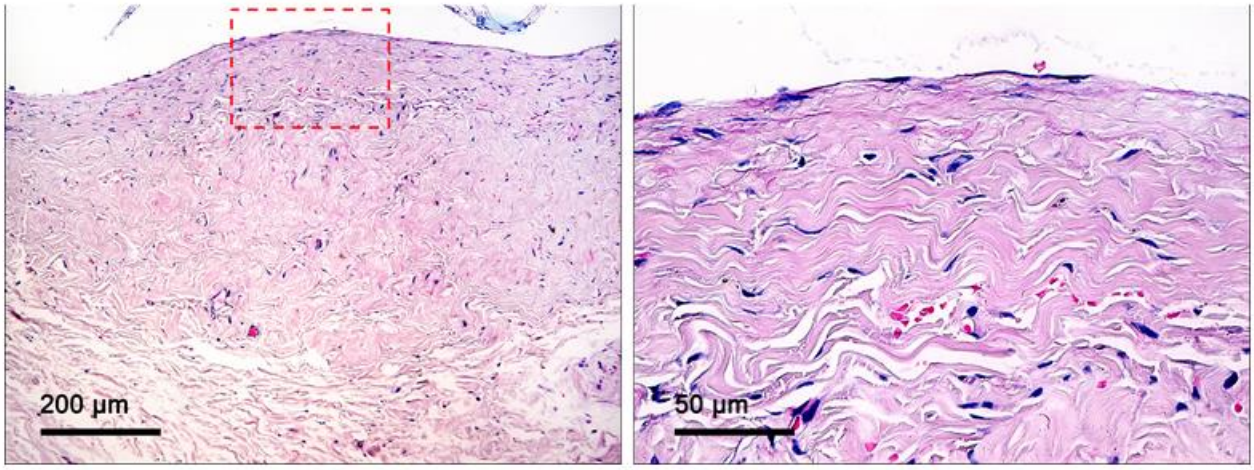

Рисунок 15 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда собаки после обработки 96% этанолом и имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

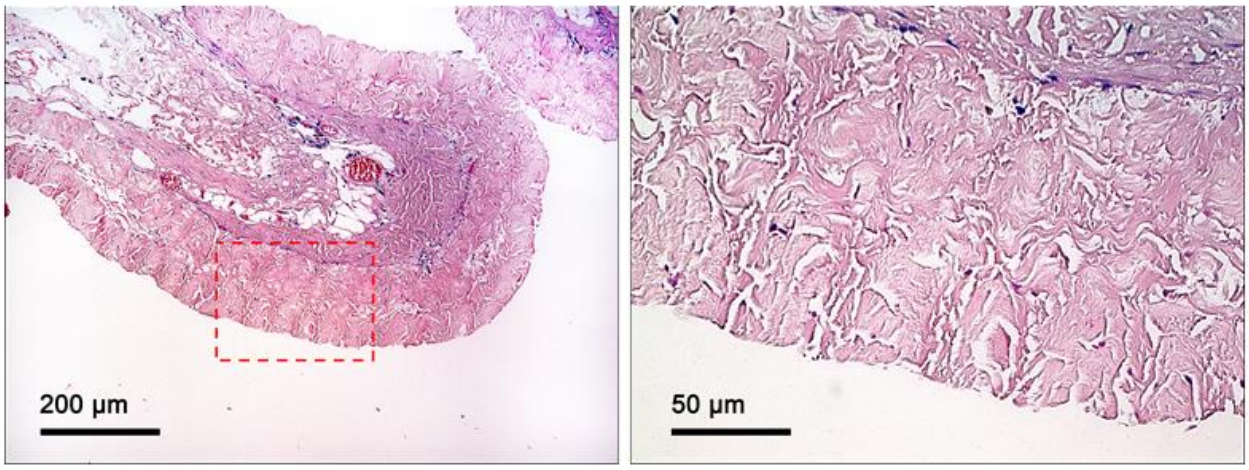

Рисунок 16 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда собаки после обработки 0,625% глютаральдегидом и имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

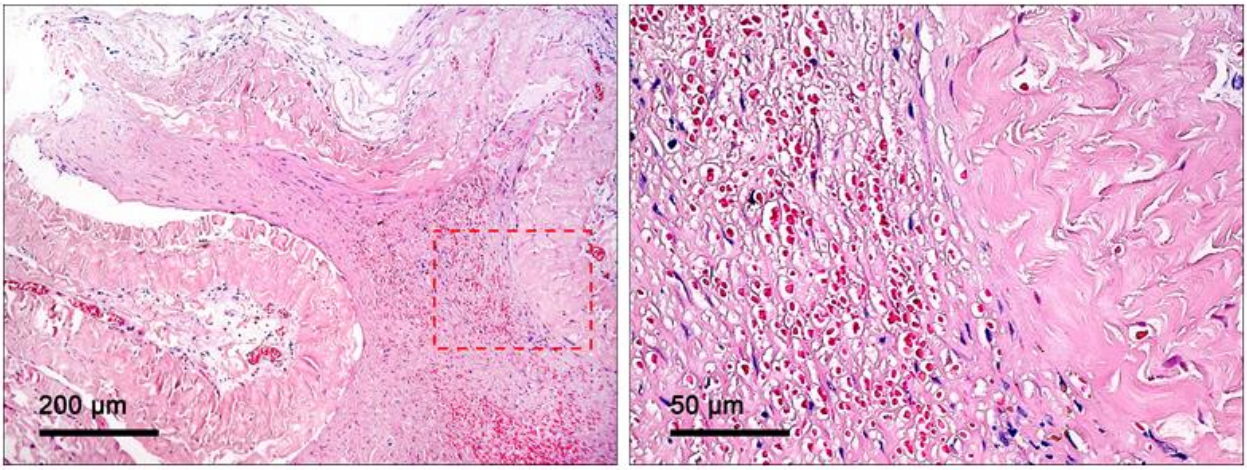

Рисунок 17 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда человека после обработки 0,625% глютаральдегидом и имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

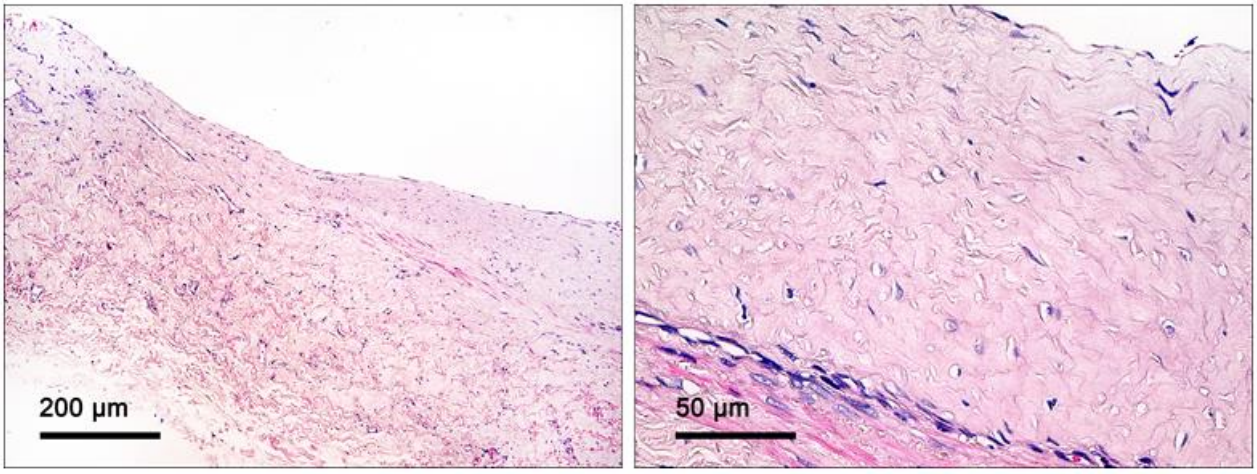

Рисунок 18 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда человека после обработки 0,625% глютаральдегидом и имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

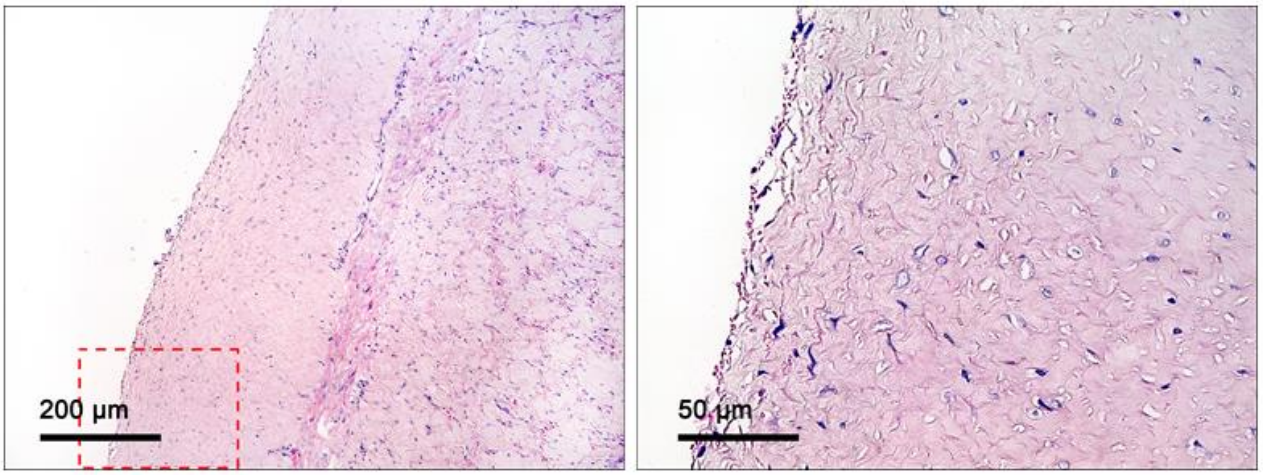

Рисунок 19 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда человека после обработки 0,625% глютаральдегидом и имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

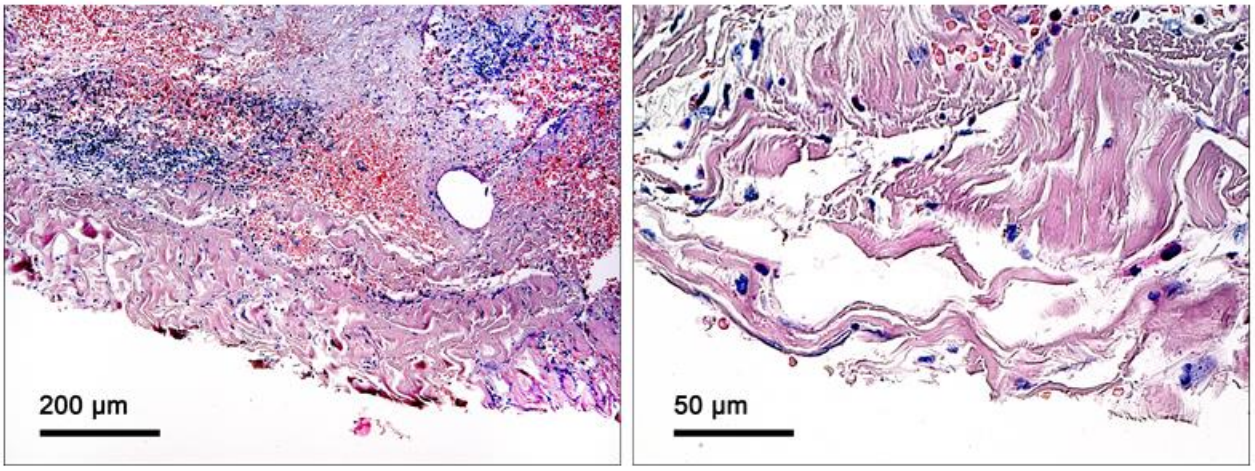

Рисунок 20 – Световая микроскопия гистологического препарата криоконсервированного перикарда человека после обработки 0,625% глютаральдегидом и имплантации в венозное русло животного (гематоксилин-эозиновая окраска). А – увеличение ×100. Б – увеличение ×400.

Научное издание

Дроздовский Константин Викентьевич

Линник Юрий Иванович

ПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ В СОВРЕМЕННОЙ ДЕТСКОЙ КАРДИОХИРУРГИИ

Ответственный за выпуск В. В. Казбанов
Редактор К. В. Дроздовский
Компьютерная верстка Ю. М. Сафонова
Корректор О. Г. Тихонович

Подписано в печать 30.12.2016. Формат 60×84/16. Бумага офсетная, мелованная.
Печать офсетная. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 5,46. Уч.-изд. л. 2,44. Тираж 120 экз. Заказ 162693.

Издатель: ОДО «Беловагрупп»
Свидетельство о государственной регистрации издателя, производителя,
распространителя печатных изданий №1/70 от 01.11.2013.
Ул. Чапаева, 3-116, 220034, г. Минск, Республика Беларусь.

Полиграфическое исполнение: ООО «ТМ АРГО-ГРАФИКС»
Свидетельство о ГРИИРПИ №2/95 от 01.04.2014.
Ул. Мележа 1, оф. 221, 220113, г. Минск, Республика Беларусь.