



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ORIGINAL ARTICLES

Научная статья
УДК 616.-089.843
DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2023-3-22-26>

Морфологическое обоснование применения альтернативного аллотрансплантата для офтальмохирургии

О.Р. Шангина, Л.А. Мусина, Р.А. Хасанов

Всероссийский центр глазной и пластической хирургии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа

РЕФЕРАТ

Цель. Морфологическая оценка фиброархитектоники диспергированных аллотрансплантатов, изготовленных из кадаверной широкой фасции бедра. **Материал и методы.** Проведено изучение морфологии кадаверной ткани широкой фасции бедра, изготовленных из нее цельных консервированных в спирте и измельченных трансплантатов (по 10 образцов). Выполнялись световая микроскопия коллагеновых волокон (толщины пучков и просветов между ними) и выявление в образцах гликозаминогликанов (гистохимическая реакция Хейла). **Результаты.** Исследования образцов широкой фасции бедра, прошедших технологическую обработку, показали, что структура самой ткани и гликозаминогликаны в ее составе сохраняются, наблюдается лишь незначительное разволокнение пучков коллагеновых волокон. В то же время клеточные элементы подвергаются полному разрушению, что способствует снижению иммуногенности аллотрансплантата. Установлено, что в целом диспергированные аллотрансплантаты обладают такими же свойствами, как нативные и консервированные. **Заключение.** Технологии физико-химической обработки донорских тканей, измельчения, фракционирования и радиационной стерилизации позволяют сохранять фиброархитектонику широкой фасции бедра при изготовлении диспергированных аллотрансплантатов, что важно для регенераторных процессов при их применении в офтальмохирургии.

Ключевые слова: морфологическое исследование, фиброархитектоника, широкая фасция бедра, структура, трансплантаты, инъекционная форма биоматериала

Для цитирования: Шангина О.Р., Мусина Л.А., Хасанов Р.А. Морфологическое обоснование применения альтернативного аллотрансплантата для офтальмохирургии. Точка зрения. Восток – Запад. 2023;3: 22–26. DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2023-3-22-26>

Автор, ответственный за переписку: Шангина Ольга Ратмировна, aloolga@mail.ru

Original article

Morphological Validation of the Alternative Allograft Use in Ophthalmic Surgery

O.R. Shangina, L.A. Musina, R.A. Khasanov

Russian Center for Eye and Plastic Surgery, Ufa, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose. Morphological assessment of fibroarchitectonics of dispersed allografts made of cadaveric fascia lata. **Material and methods.** The morphological study of cadaveric fascia lata, made of its whole spirits-preserved and crushed grafts (10 samples each) was carried out. Light microscopy of collagen fibers (thickness of fiber bundles and gaps between them) in glycosaminoglycans (Hale's histochemical reaction) was performed. **Results.** Studies of fascia lata samples which underwent technological processing showed that the tissue structure and its glycosaminoglycans are preserved; there was only a slight defibrination of collagen fiber bundles. At the same time cellular elements undergo complete destruction which reduces the immunogenicity of allograft. It has been established that, in general, dispersed allografts have the same properties as native and preserved ones. **Conclusion.** Physicochemical processing of donor tissues, its crushing, fractioning and radiant sterilization allow to keep fibroarchitectonics of fascia lata when making dispersed allografts, what is important for regenerative processes in ophthalmic surgery.

Key words: morphological study, fibroarchitectonics, fascia lata, structure, grafts, injectable biomaterials

For quoting: Shangina O.R., Musina L.A., Khasanov R.A. Morphological Validation of the Alternative Allograft Use in Ophthalmic Surgery. Point of view. East – West. 2023;3: 22–26. DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2023-3-22-26>

Corresponding author: Olga R. Shangina, aloolga@mail.ru

АКТУАЛЬНОСТЬ

В настоящее время Россия обладает самыми высокотехнологичными методиками в области разработки и внедрения биоматериалов для регенеративной хирургии, а тканевые банки нашей страны могут при необходимости обеспечить практически полное замещение «импорта» в этой стратегически важной медицинской-социальной сфере [1].

Как известно, в пластической офтальмохирургии имеются следующие направления: с применением ауто- и аллотканей, а также синтетических материалов. Однако возможности использования для пластики местных тканей, которые хорошо врастают в окружающие ткани, получая достаточное питание, и легко приспособляются к новым функциональным условиям, ограничены небольшими размерами дефекта. Направление пластики с использованием синтетических материалов без условно позитивно сказалось на результатах пластической хирургии. Однако не все варианты такой пластики способны обеспечить сшивание тканей без натяжения, при этом не следует забывать и о возможных серьезных осложнениях (свищи, инфекция, отторжение имплантата и пр.) или недоступности синтетического материала.

При отсутствии необходимых синтетических материалов или высоком риске выполнения пластики с их использованием, а также невозможности проведения операции с применением местных (перемещенных) тканей, целесообразно рассмотреть вопрос об использовании для этих целей аллотрансплантатов (АТ). Их получают в результате соответствующей физической или химической обработки разных донорских тканей (амниотической мембраны, твердой мозговой оболочки, склеры и т.д.), и они остаются одними из наиболее востребованных биоматериалов для применения в пластической и восстановительно-реконструктивной хирургии, в том числе в офтальмологии. АТ активируют регенеративные процессы, замещаются новообразованной тканью и имеют существенные преимущества в виде биосовместимости, моделируемости и желаемой биомеханики, причем широкое их разнообразие основано на различных методах консервации/стерилизации [2–5].

Различные разработанные виды биоматериалов «Аллоплант» широко используются в общей, сердечно-сосудистой, пластической, челюстно-лицевой и нейрохирургии, стоматологии, проктологии, гинекологии, а также применяются для акупунктурного введения и в офтальмологии [6].

Необходимо отметить, что в последние годы, на фоне развития инновационных хирургических методик, спрос на биоматериалы для трансплантации существенно увеличился. Это обусловило необходимость иметь в арсенале хирургов разнообразные альтернативные трансплантаты, в том числе хорошо зарекомендовавшие себя лиофилизированные ткани из широкой фасции бедра (ШФБ) – Fascia lata [7–9]. Кроме того, в настоящее время в офтальмологии стали широко применяться инъекционные формы аллогенных биоматериалов при лечении рубцов век, патологии роговицы глаза (язвы, кератоконус и др.), пигментной дегенерации

сетчатки, неврита зрительного нерва, макулодистрофии, хориоретинальных дистрофий различной этиологии, высокой миопии [10–14].

С учетом возросших потребностей клиник в инъекционных биоматериалах, становится актуальным поиск новых видов соединительной ткани, из которых можно изготавливать диспергированные АТ. С целью подбора необходимой для изготовления диспергированных биоматериалов ткани ранее были проведены комплексные исследования с использованием кадаверной ШФБ.

ЦЕЛЬ

Морфологическая оценка фиброархитектоники диспергированных АТ, изготовленных из кадаверной ШФБ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовались аллогенные биоматериалы: нативные кадаверные ткани ШФБ человека, изготовленные из нее консервированные в 70% спирте и измельченные (диспергированные) – по 10 образцов. Обработка тканей осуществлялась по технологии, разработанной в ВЦППХ, в частности, диспергированные АТ подвергались физико-химической обработке, высушиванию-лиофилизации, измельчению, фракционированию, радиационной стерилизации.

Нативные ткани из кадаверной ШФБ фиксировали в 10% растворе забуференного (рН 7,0) по Лилли формалина. После обезвоживания в спиртах фиксированные нативные ткани и консервированные в 70% этаноле АТ заливали в парафин по стандартной методике. Из диспергированных АТ готовили мазки. Парафиновые срезы и мазки окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону и проводили гистохимическую реакцию на выявление гликозаминогликанов (ГАГ) по методу Хейла. Измерение толщины пучков коллагеновых волокон (КВ) и просветов между ними на гистологических препаратах проводили с использованием светового микроскопа AxioImager Z1 при общем увеличении микроскопа $\times 200$ и программы анализа изображений Axiovision (CarlZeiss, Германия).

При гистохимическом исследовании использовалась полуколичественная оценка полученных результатов (принцип Астальди, основанный на выявлении различной степени интенсивности специфической окраски после постановки гистохимической реакции). Парафиновые срезы изготавливали на ротационном микротоме LEICA RM 2145 (LEICA, Германия). Микроскопирование и фотографирование всех окрашенных препаратов производили на микроскопе марки LEICADMD 108 (LEICA, Германия).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.1. Рассчитывали групповые показатели суммарной статистики – среднюю арифметическую величину (M) и ошибку средней (m). Сравнение данных проводили с помощью параметрического метода t-критерия Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

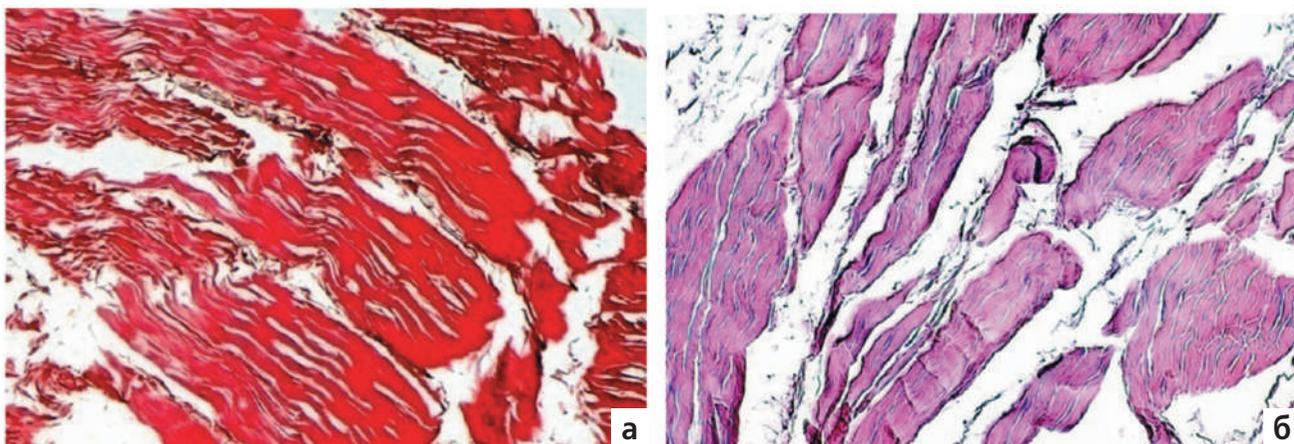


Рис. 1. Фиброархитектоника консервированного АТ широкой фасции бедра человека: а – окраска по Ван Гизону, увел. 100; б – окраска гематоксилином и эозином, увел. 200

Fig. 1. Fibroarchitectonics of dispersed fascia lata allografts: а – Van Gieson's stain, $\times 100$; б – H&E stain, $\times 200$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гистология нативной кадаверной ткани ШФБ хорошо известна. Сухожильные пластины волокнистой соединительной ткани состоят из плотно упакованных КВ (с удлиненными между ними ядрами фибробластических клеток), которые окрашиваются по Ван Гизону в ярко-красно-оранжевые тона. Фасции трудно растяжимы, поскольку КВ, точнее их пучки, находятся в нескольких слоев друг над другом. При этом между ними визуализируются прослойки рыхлой соединительной ткани (ПРСТ). В каждом отдельном слое пучки КВ лежат параллельно друг к другу и ориентированы в одном направлении, которое не совпадает с направлением в соседнем слое. Отдельные солитарные пучки тонких КВ регистрируются связанными между собой при переходе их от одного слоя в другой. Такая структура обеспечивает оптимальные прочностные свойства фасции. Кроме КВ, в ткани фасции есть и тонкие эластические волокна.

Коллагеновый каркас и тинкториальные свойства ткани после обработки сохранялись полностью, КВ также окрашивались пикрофуксином в ярко-красный цвет (рис. 1, а). При этом клеточные элементы после обработки подвергались полному разрушению, что обуславливает уменьшение иммуногенности АТ (рис. 1, б).

Микроструктура волокнистого остова консервированных АТ сохранена. Так, КВ в пределах каждого пучка также ориентированы в одном направлении, а волоконистые пучки в разных слоях фасции – под углом друг к другу. Сохраняются ПРСТ между слоями плотно уложенных КВ. На этом фоне, однако, отмечалось существенное уменьшение толщины пучков КВ (варианты 36,64–89,68, в среднем $63,49 \pm 14,12$) и достоверное увеличение межпучковых пространств (19,78–63,03, в среднем $42,96 \pm 10,44$) в консервированном АТ ШФБ по сравнению с нативной тканью (89,73–147,72, в среднем $116,44 \pm 14,22$, и 3,94–21,73, в среднем $10,01 \pm 3,56$ соответственно). Вероятно, после обработки в АТ происхо-

дит слабо выраженное разволокнение пучков КВ, что, однако, не сказывается на качестве конечного продукта – диспергированного биоматериала.

Гистохимические исследования показали, что в нативной кадаверной ткани ШФБ плотные волоконистые пучки окрашивались преимущественно в синие и голубые тона, что свидетельствует о значительном содержании ГАГ и соответствующей положительной реакции, оцененной нами в ++ (рис. 2, а). Там, где пучки КВ были широкими, преобладало интенсивное окрашивание эозином, хотя ГАГ и определялись в местах разволокнения и рыхлых прослойках между пучками. Это мы оценили как слабopоложительную реакцию (+).

Следует отметить, что в консервированных АТ, изготовленных из ткани ШФБ, после соответствующей обработки ткани содержание ГАГ преимущественно определялось в виде положительной реакции в ++ (рис. 2, б). Только иногда визуализировались небольшие зоны со слабopоложительной реакцией (+), где широкие пучки толстых КВ местами окрашивались эозином, а более тонкие волокна между ними – в синий цвет.

В диспергированных формах АТ, так же как и в образцах нативной ткани и консервированном биоматериале при окраске по Ван Гизону, КВ окрашивались пикрофуксином в ярко-красные тона. Это наглядно свидетельствовало в пользу сохранности их микроструктуры (рис. 3, а). Частицы АТ, окрашиваясь в синий цвет, давали положительную реакцию (++) на высокое содержание в них ГАГ (рис. 3, б).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в диспергированных АТ ШФБ, после прошедшей технологической обработки (состоящей из 5 основных этапов), деструктивных процессов не отмечалось. Сохранение основных свойств нативных и цельных образцов ШФБ, безусловно, может свидетельствовать о сохранности регенеративного потенциала АТ. Важным моментом является то, что при изготовлении АТ происходит удаление клеточных элементов, ответственных за его иммуногенность на фоне максимального сохранения КВ

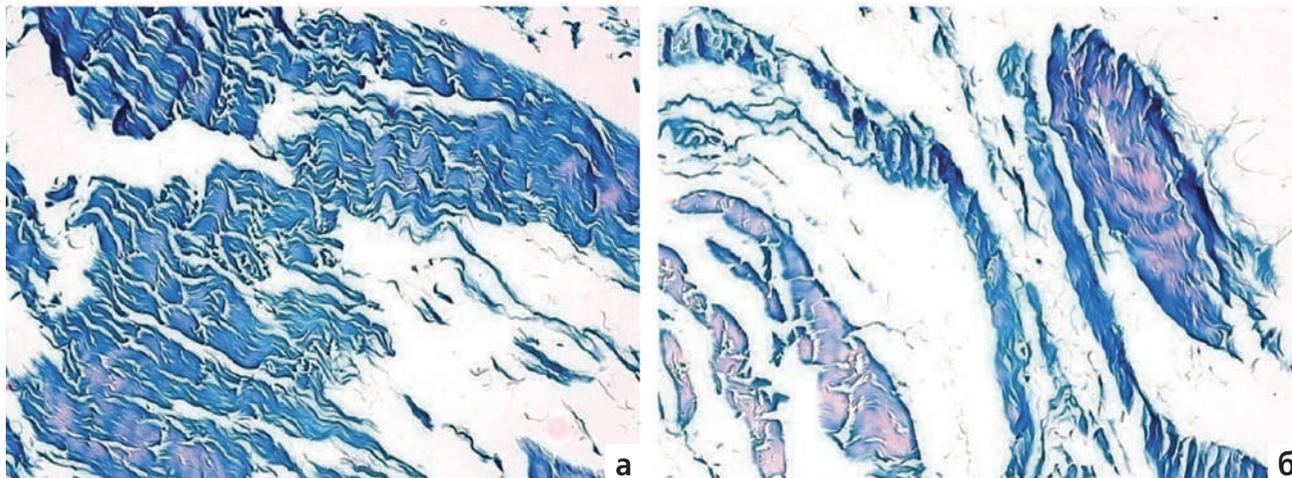


Рис. 2. Результаты гистохимической положительной реакции (++) на выявление ГАГ в образцах широкой фасции бедра (сине-голубые цвета): а – нативная кадаверная ткань ШФБ, увел. 200; б – консервированный аллотрансплантат ШФБ, увел. 200

Fig. 2. Histochemical positive reaction (++) of GAG in fascia lata samples (blue colours): а – native cadaver tissue of fascia lata, x200; б – preserved fascia lata allograft, x200

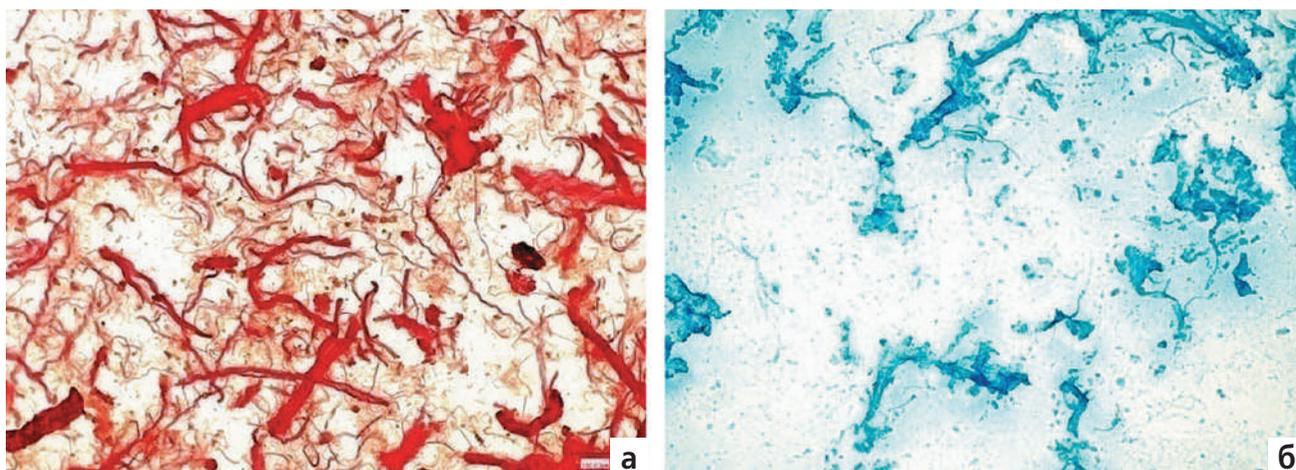


Рис. 3. Фиброархитектоника диспергированного АТ широкой фасции бедра: а – окраска по Ван Гизону, увел. 200; б – положительная реакция Хейла на содержание ГАГ, увел. 200

Fig. 3. Fibroarchitectonics of dispersed fascia lata allografts: а – Van Gieson's stain, x200; б – positive Hale test for GAG, x200

и ГАГ, играющих весьма значительную роль в процессе регенерации тканей. Таким образом, данные исследования подтвердили желаемое качество диспергированных АТ ШФБ и требования, предъявляемым к готовым образцам АТ из соединительной ткани.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Технологии физико-химической обработки донорских тканей, измельчения, фракционирования и радиационной стерилизации позволяют сохранять фиброархитектонику ШФБ при изготовлении диспергированных

АТ, что важно для регенераторных процессов при их использовании в офтальмохирургии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Шангина О.Р. Роль многопрофильного тканевого банка в разработке и клинической реализации технологии регенеративной хирургии. Практическая медицина. 2019;17(1): 2–23. [Shangina OR. The role of a multidisciplinary tissue bank in development and clinical implementation of regenerative surgery technology. Practical Medicine. 2019;17(1): 2–23. (In Russ.)] doi: 10.32000/2072-1757-2019-1-17-19

2. Покровская Е.М. Современные трансплантаты для восстановления костных дефектов в ринологии. Вестник оториноларингологии. 2015;80(4): 22–26. [Pokrovskaya EM. The modern transplants for the restoration of bone defects in rhinology. Vestnik Oto-Rino-Laringologii. 2015;80(4): 22–26. (In Russ.)] doi: 10.17116/otorino201580422-26
3. Рончевич Н., Савкович З., Нигматуллин Р.Т. Травматические переломы глазницы и отношение к ним. Российский офтальмологический журнал. 2016;9(3): 101–109. [Ronchevich R, Savkovich Z, Nigmatullin RT. Traumatic orbital fractures and various approaches to their treatment. Russian Ophthalmological Journal. 2016;9(3): 100–108. (In Russ.)] doi: 10.21516/2072-0076-2016-9-3-100-108
4. Семенов Ф.В., Соколов М.Ю. Применение трансплантатов при реконструктивной хирургии ретроимпанального отдела среднего уха. Российская оториноларингология. 2017;6(91): 110–117. [Semenov FV, Sokolov M Yu. The use of grafts in reconstructive surgery of the retrotympanic area of the middle ear. Vestnik Oto-Rino-Laringologii. 2017;6(91): 110–117. (In Russ.)] doi: 10.18692/1810-4800-2017-6-110-117
5. Нигматуллин Р.Т., Кутушев Р.З. Ксенотрансплантация тканей: фрагменты истории зарождения и перспективы ее развития. Медицинский вестник Башкортостана. 2021;16(4): 75–80. [Nigmatullin RT, Kutushev RZ. Xenotransplantation of tissues: fragments of history and development prospects. Bashkortostan Medical Journal. 2021;16(4): 75–80. (In Russ.)]
6. Мулдашев Э.Р. Технологии «Аллоплант» как инновационная модель регенеративной хирургии. Практическая медицина. 2019;17(1): 2–23. [Muldashv ER. Alloplant technology as the innovational model of regenerative surgery. Practical medicine. 2019;17(1): 2–23. (In Russ.)] doi: 10.32000/2072-1757-2019-1-12-16
7. Липский К.Б., Истранов А.Л., Нуралиев М.Х. Фасциальные аллотрансплантаты при проблемных ситуациях в ринопластике. Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. 2005;3: 81–82. [Lipsky KB, Istranov AL, Nuraliev MKh. Facial grafts in the problem situation of rhinoplasty. Annals of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery. 2005;3: 81–82. (In Russ.)]
8. Malhotra R, Sheikh I, Dheansa B. The management of eyelid burns. Surv Ophthalmol. 2009;54: 356–371. doi: 10.1016/j.survophthal.2009.02.009
9. Шангина О.Р., Булгакова Л.А. Структурные особенности лиофилизированных тканей и возможности их клинического применения. Практическая медицина. 2019;17(1): 2–23. [Shangina OR, Bulgakova LA. Structural peculiarities of lyophilized tissues and possibilities of their clinical application. Practical medicine. 2019;17(1): 2–23. (In Russ.)] doi: 10.32000/2072-1757-2019-1-20-23
10. Шакиров Р.Ф. Изменение толщины роговицы при кератоконусе до и после перилимбального введения диспергированного биоматериала «Аллоплант». Вестник Оренбургского государственного университета. 2012;12: 229–230. [Shakirov RF. Changes of the cornea thickness in keratoconus following perilimbal injection of dispersed alloplant biomaterial. Vestnik of Orenburg State Pedagogical University. 2012;12: 229–230. (In Russ.)]
11. Галимова В.У., Шакиров Р.Ф., Гареев Е.М. Результаты лечения больных кератоконусом диспергированным в различной степени биоматериалом «Аллоплант». Офтальмологические ведомости. 2013;1: 26–28. [Galimova VU, Shakirov RF, Gareev EM. The results of the keratoconus treatment of different degree by alloplant dispersed biomaterial. Ophthalmology Reports. 2013;1: 26–28. (In Russ.)]
12. Корнилаева Г.Г., Гафаров И.З., Карушин О.И., Корнилаева М.П. Хирургическое лечение неврита зрительного нерва с применением биоматериалов «Аллоплант». Практическая медицина. 2019;17(1): 34–38. [Kornilava GG, Gafarov IZ, Karushin OI,

Kornilava MP. Surgical treatment of optic neuritis using Alloplant biomaterials. Practical Medicine. 2019;17(1): 34–38. (In Russ.)] doi: 10.32000/2072-1757-2019-1-34-38

13. Корнилаева Г.Г., Корнилаева М.П., Примов Р.Э., Волгарева Е.А., Шангина О.Р. Алгоритм выбора биоматериалов Аллоплант при посттравматических стафиломах. Медицинский вестник Башкортостана. 2021;16(4): 19–22. [Kornilava GG, Kornilava MP, Primov RE, Volgareva EA, Shangina OR. The Alloplant biomaterial selection algorithm in posttraumatic staphylomas. Bashkortostan Medical Journal. 2021;16(4): 19–22. (In Russ.)]
14. Мусин У.К. Применение ревазуляризирующей операции при макулодистрофии. Медицинский вестник Башкортостана. 2021;16(4): 53–56. [Musin UK. Application of revascularization surgery in macular degeneration. Bashkortostan Medical Journal. 2021;16(4): 53–56. (In Russ.)]

Информация об авторах

Шангина Ольга Ратмировна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией консервации тканей, ведущий научный сотрудник, ВЦГПХ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа, aloolga@mail.ru, <https://orcid/0000-0003-1686-1254>

Мусина Ляля Ахияровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела морфологии ВЦГПХ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа, morphoplant@mail.ru, <https://orcid/0000-0003-1237-9284>

Хасанов Руслан Алмазович – к.ф.н., ведущий научный сотрудник лаборатории консервации тканей ВЦГПХ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа, khrusall@mail.ru, <https://orcid/0000-0002-3978-3976>

Information about the authors

Olga R. Shangina – Doct. of Sci. (Biol.), professor, Head of Tissue Preservation Laboratory, leading researcher, Russian Center for Eye and Plastic Surgery, Bashkir State Medical University of Health of Russia, Ufa, aloolga@mail.ru, <https://orcid/0000-0003-1686-1254>

Lyalya A. Musina – Doct. of Sci. (Biol.), leading researcher of the Morphology Department Russian Center for Eye and Plastic Surgery, Bashkir State Medical University of Health of Russia, Ufa, morphoplant@mail.ru, <https://orcid/0000-0003-1237-9284>

Ruslan A. Khasanov – Cand. of Sci., leading researcher of Tissue Preservation Laboratory, Russian Center for Eye and Plastic Surgery, Bashkir State Medical University of Health of Russia, Ufa, khrusall@mail.ru, <https://orcid/0000-0002-3978-3976>

Вклад авторов

Шангина О.Р. – существенный вклад в концепцию и дизайн работы, сбор, анализ и обработка материала, консультирование электронно-микроскопических препаратов, написание, редактирование, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.
Мусина Л.А. – сбор, анализ и обработка материала, описание электронно-микроскопических препаратов, написание, редактирование.
Хасанов Р.А. – сбор, анализ и обработка материала.

Authors' contributions

Shangina O.R. – substantial contributions to the conception and design, acquisition, analysis, processing, supervision, writing, final approval of the version to be published.

Musina L.A. – acquisition, analysis and processing, writing, editing.

Khasanov R.A. – acquisition, analysis and processing.

Финансирование: авторы не получили финансирование при проведении исследования и написании статьи.

Конфликт интересов: отсутствует.

Funding: the authors received no specific funding for this work.

Conflicts of interest: none declared.

Поступила: 28.03.2023

Переработана: 15.05.2023

Принята к печати: 25.05.2023

Originally received: 28.03.2023

Final revision: 15.05.2023

Accepted: 25.05.2023