

На правах рукописи

ЩЕРБАКОВ Дмитрий Александрович

**АНАТОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МИОТЕНДОПЛАСТИКИ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ
АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОВ**

14.03.01 – анатомия человека

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Уфа – 2012

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации и Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Нигматуллин Рафик Талгатович

Официальные оппоненты: **Валишин Эдуард Салихович**
доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, профессор кафедры анатомии человека;

Железнов Лев Михайлович

доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Оренбургская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, заведующий кафедрой анатомии человека.

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Волгоградская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

Защита состоится « » мая 2012 г. в часов на заседании диссертационного совета Д208.006.02 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по адресу: 450000, Уфа, ул. Ленина, д. 3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по адресу: 450000, Уфа, ул. Ленина, д. 3

Автореферат разослан « » _____ 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

С.В. Федоров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Создание экспериментальных моделей на скелетных мышцах позволяет изучить закономерности их функционирования в норме и патологии, а также раскрыть репаративный потенциал скелетной мышцы как органа (Краснов А.Ф. с соавт., 1999; Patruno M. et al., 2008). Известно, что результаты многочисленных анатомо-экспериментальных исследований позволили разработать методы реконструктивных операций при различных поражениях скелетной мускулатуры и структур мягкого остова (Габбасов А.Г., 1984–1986; Миронов С.П. с соавт., 2001; Демичев Н.П., 2003).

Исследованиями последних лет доказано, что скелетная мышца как орган, её структурные элементы (сухожилие, фасциальный аппарат, поперечнополосатая мышечная ткань) способны к репаративной регенерации (Данилов Р.К., 2007). В частности, для пластики поврежденных скелетных мышц, сухожилий и других структур опорно-двигательного аппарата используются сухожильные ауто- и аллотрансплантаты (Вагапова В.Ш. с соавт., 1986; Демичев Н.П., 1990; Болтуркевич С.П. 1993; Мельченко С.С., 2003).

Результаты указанных морфофункциональных исследований позволили выделить три основных фактора оптимизации репаративных процессов в поврежденной скелетной мышце. Первый фактор – это раннее восстановление вспомогательного соединительнотканного аппарата мышцы с сохранением скользящих свойств движущихся структур. Второй – воссоздание опоры для мышцы. Следует отметить, что названные факторы неразрывно связаны между собой, так как опорой для мышцы служит специально организованная соединительная ткань (сухожилие, эндо-, пери- и эпимизий). Наконец, стимуляция клеточных механизмов репаративного миогенеза, таких как мобилизация клеток-сателлитов или их предшественников является третьим фактором.

Однако, до настоящего времени не изучены возможности оптимизации репаративной регенерации скелетной мускулатуры путем трансплантации различных по структуре биоматериалов на основе аллогенного сухожилия. Очевидно, что дальнейшие исследования в области экспериментальной миотендопластики могут составить теоретический базис современной реконструктивной и восстановительной хирургии скелетных мышц. (Демичев Н.П., 1968–2003; Байтингер В.Ф. с соавт., 2010; Мулдашев Э.Р., 2009–2011).

Учитывая изложенное, была сформулирована **цель настоящего исследования**: раскрыть формообразующую роль трансплантата аллогенного сухожилия и его губчатой модификации при репаративной регенерации скелетной мышцы.

Задачи исследования:

1. Исследовать процессы репаративной регенерации в области дефекта скелетной мышцы при пластике трансплантатом аллогенного сухожилия с последующим окутыванием области дефекта мембранным трансплантатом.

2. Разработать экспериментальную модель трансплантации губчатого биоматериала в область дефекта скелетной мышцы и смоделировать соединительнотканый остов для направленной регенерации скелетной мышечной ткани.

3. Изучить динамику репаративных процессов при замещении дефекта скелетной мышцы аллогенным губчатым трансплантатом с последующим окутыванием области дефекта мембранным трансплантатом.

4. Исследовать роль губчатого трансплантата в реализации механизмов репаративной регенерации скелетной мышцы и оценить функциональное состояние реконструированной скелетной мышцы методом электронейромиографии.

5. Изучить влияние мембранного трансплантата на формирование фасциального футляра мышцы.

Научная новизна:

1. Впервые для замещения субтотального дефекта брюшка икроножной мышцы в эксперименте использован аллогенный сухожильный трансплантат в комбинации с мембранным ограничителем, что способствовало формированию мышечно-соединительнотканного регенерата с фиксацией мышечных волокон на сухожильном трансплантате. Превалирование оформленного соединительнотканного компонента в структуре регенерата подтверждается высоким коэффициентом оптической анизотропии ($127,32 \pm 5,04$ на 90-е сутки эксперимента). При этом не достигается восстановления утраченного объема мышцы как органа.

2. Впервые описаны репаративные процессы при замещении дефекта скелетной мышцы губчатым соединительнотканым трансплантатом. Экспериментально обоснована целесообразность комбинирования губчатого и сухожильного трансплантатов для восполнения утраченного объема брюшка скелетной мышцы.

3. При экспериментальном замещении субтотального дефекта мышечного брюшка икроножной мышцы комбинированным соединительнотканым транс-

плантатом (губчатый биоматериал, сухожильный трансплантат) с последующим окутыванием области операции мембранным ограничителем в ранние сроки происходит восстановление кровоснабжения в зоне трансплантации (суммарная площадь просвета капилляров на 30-е сутки составляет $469,21 \pm 17,34$ мкм², что в 1,69 раза выше нормальных значений в брюшке скелетной мышцы).

4. Использование губчатого и сухожильного трансплантатов для восполнения утраченного объема скелетной мышцы способствует формированию мышечно-соединительнотканного регенерата с преимущественным содержанием скелетной мышечной ткани. При этом достигнуто восстановление объема мышечного брюшка на 99% по ширине и на 94% по толщине. Критерием восстановления мышцы как органа является исчезновение спонтанной активности и восстановление амплитуды мышечных сокращений до $1,49 \pm 0,18$ мВ по данным электронейромиографии.

5. Применение мембранного трансплантата для окутывания области дефекта скелетной мышцы, как завершающий этап миопластики, в ранние сроки ограничивает оперированную область от миграции малодифференцированных соединительнотканых клеток и способствует сохранению скользящих свойств мышечного брюшка. В отдаленные сроки мембранный ограничитель замещается плотной оформленной соединительной тканью с разнонаправленной ориентацией коллагеновых волокон и по структуре соответствует эпимизию и прилежащим скользящим оболочкам.

Практическая значимость:

1. Полученные результаты миотендопластики с использованием аллотрансплантатов в различных комбинациях могут быть использованы в клинической медицине при разработке принципов реконструктивной хирургии скелетных мышц. Предложенные методы могут быть реализованы при выполнении восстановительных операций на скелетных мышцах в различных сферах хирургии (травматология, челюстно-лицевая хирургия, офтальмохирургия).

2. Учитывая формирование мышечно-соединительнотканного регенерата с абсолютным преобладанием скелетной мышечной ткани в области трансплантации губчатого биоматериала, возможна разработка клеточных матриц на основе указанного трансплантата для создания экспериментальных моделей по восстановлению высокоспециализированных тканей и органов на принципах тканевой инженерии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Трансплантат аллогенного сухожилия при имплантации в брюшко скелетной мышцы приводит к ремоделированию его соединительнотканного остова с фиксацией мышечных элементов на биоматериале и перестройкой мышечного брюшка с формированием структуры по типу двубрюшной мышцы.

2. Губчатый биоматериал в комбинации с сухожильным трансплантатом благодаря своей пространственной архитектонике моделирует структуры эндо- и перимизия. В просвете его каналов в результате ранней миграции эндотелиоцитов и фибробластов формируется микроокружение, способствующее пролиферации скелетной мышечной ткани, при адекватном кровоснабжении тканевого ложа и зоны регенерации. Результаты электронейромиографии указывают на восстановление сократительной функции мышцы как органа.

3. Мембранный биоматериал в ранние сроки выполняет роль ограничителя для направленной регенерации тканей, изолируя область трансплантации от миграции клеток соединительной ткани. В результате его замещения происходит восстановление фасциального футляра и скользящих структур оперированной мышцы.

Реализация результатов работы. Результаты работы внедрены в клиническую практику травматологического пункта при Городской клинической больнице № 10 г. Уфы (главный врач, к.м.н. Аслямов Н.Н.), отделений офтальмохирургии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздравсоцразвития России (главный врач, к.м.н. Кульбаев Н.Д.).

Личный вклад диссертанта в исследование. Автором лично выполнены экспериментально-морфологические исследования в отделе морфологии ФГБУ «ВЦГПХ» Минздравсоцразвития России (зав. отделом д.м.н., проф. Муслимов С.А.). Весь материал диссертации проанализирован и обработан с использованием математических методов лично автором.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы доложены на 70-й юбилейной итоговой Республиканской конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2005); на межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы правовой охраны и коммерциализации результатов интеллектуальной деятельности (Уфа, 2005); на Всероссийской научно-практической конференции «Клиника, диагностика и лечение больных с врожденными аномалиями развития» (Курган, 2007); на Всероссийской научно-практической конфе-

ренции «Клеточные и нанотехнологии в биологии и медицине» (Курган, 2007); на III Всероссийском симпозиуме с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» (Москва, 2007); на IV Всероссийском съезде трансплантологов памяти академика В.И. Шумакова (Москва, 2008); на Всероссийской научной конференции «Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия в XXI веке» (Оренбург, 2009); на XXI Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Новые технологии микрохирургии глаза» (Оренбург, 2010).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 работ, четыре из которых в журналах, рекомендованных ВАК.

Объём и структура работы. Диссертация изложена на 162 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. В работе содержится 74 рисунка и 2 таблицы. Указатель литературы включает 234 источника (145 отечественный и 89 иностранных).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования выполнены в отделе морфологии Всероссийского центра глазной и пластической хирургии (г. Уфа). На половозрелых крысах породы Вистар под эфирным наркозом смоделированы два варианта миопластики после нанесения дефекта икроножной мышцы. Динамику структурных изменений изучали на 14-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки эксперимента. Всего для проведения эксперимента использовано 92 лабораторных животных. Гистологические срезы аллотрансплантата и тканевого ложа окрашивались по Ван-Гизону, гематоксилином и эозином, по Маллори, проводилась поляризационная и электронная микроскопия. Аллогенные биоматериалы готовились в лаборатории Центра в соответствии с требованиями ТУ 9398-001-04537642-2011: сухожильный трансплантат, губчатый трансплантат, мембранный трансплантат (руководитель лаборатории д.б.н. Шангина О.Р.). Губчатый биоматериал представляет собой сухожилие, обработанное методом лиофилизации, что позволяет добиться модификации структуры в губчатую форму с увеличением объема в 6 раз (Хасанова Ю.С., 2008). Базовые научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы по созданию указанных биоматериалов выполнены под руководством директора Центра, профессора Э.Р. Мулдашева.

Методики операций. В контрольной серии (n=36) после разреза кожных покровов на задней поверхности голени производилось выделение икроножной мышцы и пяточного сухожилия, а также малоберцового нерва, который не должен повреждаться. Затем на брюшко мышцы в средней трети наносился дефект длиной 3–4 мм. В толще проксимальной и дистальной культей создавался тоннель (рис. 1.1), в который вводился аллосухожильный трансплантат (рис. 1.2) диаметром 1,5–2 мм с фиксацией по краям узлами (рис. 1.3). Затем область трансплантации укутывалась мембранным биоматериалом (рис. 1.4), который фиксировался по краям шовным материалом Vicryl 5–0 (рис. 1.5).

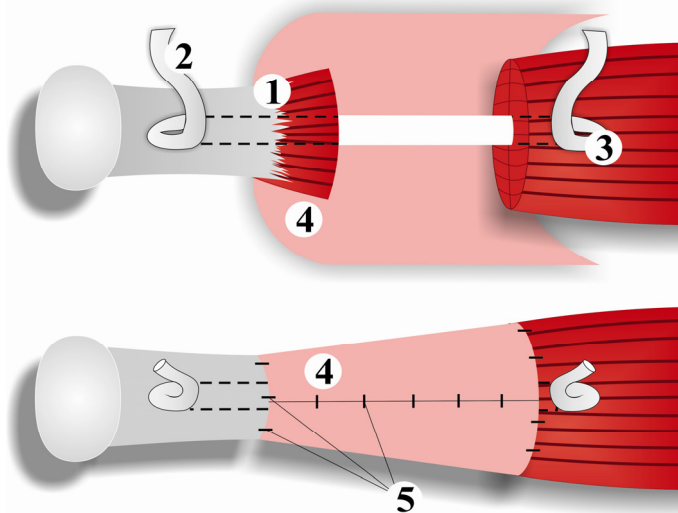


Рис. 1 Схема. Пластика дефекта икроножной мышцы аллогенными сухожильным и мембранным трансплантатами. 1 – дистальная (сухожильно-мышечная) культя; 2 – аллогенный сухожильный трансплантат; 3 – узловая фиксация сухожильного трансплантата; 4 – мембранный трансплантат; 5 – швы на мембранном трансплантате

В опытной серии (n=36) после нанесения дефекта в него укладывался комбинированный аллотрансплантат (губчатый биоматериал и сухожильный трансплантат) соответствующих размеров (рис. 2.1). Губчатый и сухожильный трансплантат сшивались между собой нитью Vicryl 6–0 (рис. 2.2).

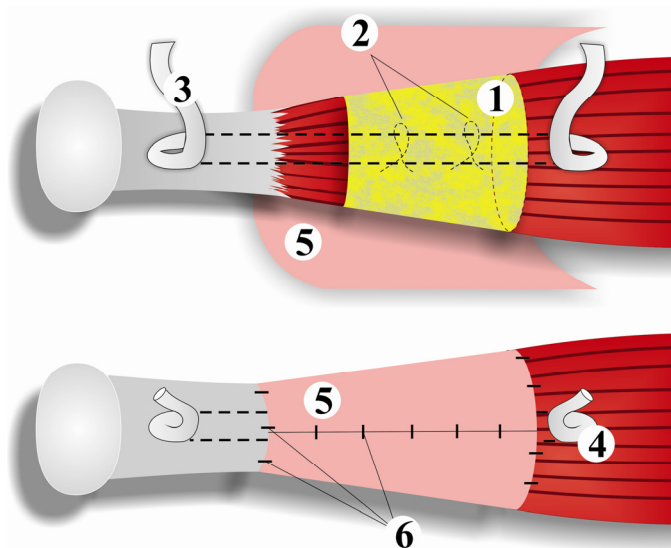


Рис. 2. Схема. Пластика дефекта икроножной мышцы губчатым и сухожильным аллогенными трансплантатами с последующим окутыванием мембранным ограничителем. 1 – губчатый трансплантат; 2 – фиксация сухожильного и губчатого трансплантатов между собой; 3 – сухожильный трансплантат; 4 – узловая фиксация сухожильного трансплантата; 5 – мембранный трансплантат; 6 – наложение швов на мембранный трансплантат

Выполнялась фиксация сухожильного трансплантата (рис. 2.3, 2.4). После чего производилось окутывание оперированного участка мембранным трансплантатом (рис. 2.5) с фиксацией нитью Vicryl 6–0 (рис. 2.6). Применение мембранного трансплантата не является отличительным признаком контрольной и опытной серий. Последним этапом в обеих сериях являлось ушивание мягких тканей и кожи шелком 3–0.

Методы экспериментальных исследований. С помощью макро-микротрепарирования под микроскопом МБС-2 с окулярной линейкой измерялась толщина и ширина мышечного брюшка икроножной мышцы. Определялась относительная плотность мышечной ткани (ОПМТ) в микротрепаратах. При этом изображения, полученные в световом микроскопе МС-50, в программе Biovision 3.0. Также рассчитывалась суммарная площадь просвета капилляров (СППК) в области трансплантации. Измерялась толщина волокон поперечнополосатой мышечной ткани. Рассчитывался коэффициент однонаправленной ориентации (КО) мышечных волокон. Поляризационная микроскопия проводилась на поляризационном микроскопе Мин.-8. Регистрировался коэффициент оптической анизотропии (КА). Электронно-микроскопические исследования проводили согласно рекомендациям Б. Уикли (1975) на электронном микроскопе Jem-100В (Япония) при увеличениях 3000–19000. Животным опытной группы проведена элетронеуромиография (ЭНМГ) на аппарате «Нейро-МВП» на базе программы Нейрософт. Статистическая обработка полученных данных выполнялась по О.Ю. Ребровой (2002). Для сравнения результатов двух серий экспериментов использовался параметрический метод (t-критерий Стьюдента для независимых групп).

Результаты исследования и их обсуждение. Две серии экспериментов позволили провести сравнительный анализ формообразовательных свойств трех аллотрансплантатов: сухожильного, губчатого (канализированного) и мембранного. В ранние сроки (14-е сутки) в обеих сериях в области проведенной миотендопластики наблюдается полиморфно-клеточная инфильтрация соединительнотканых трансплантатов. При этом в составе клеточного инфильтрата определяется преимущественное содержание клеток фибробластического и моноцитарно-макрофагального дифферонов. Результатами более ранних исследований доказано оптимизирующее влияние макрофагов на репаративные процессы в области подсадки соединительнотканых трансплантатов

(Мусина Л.А. с соавт., 2009). В краевой зоне дефекта мышечного брюшка происходит активный рост поперечнополосатой мышечной ткани. При этом на концах регенерирующих мышечных волокон формируются наплывы саркоплазмы. Важно отметить, что приведенные механизмы являются общими для контрольной и опытной серий экспериментов. Полученные данные согласуются с результатами работы Н.В. Буляковой (2010), которая наблюдала описанные механизмы при репаративной регенерации икроножной мышцы у крыс при воздействии лазерного излучения.

Репаративная регенерация поперечнополосатой мышечной ткани в двух сериях экспериментов в ранние сроки не сопровождается восстановлением объема мышечной ткани, что подтверждается результатами макро-микрорепаирования. Так, на 14-е сутки в контрольной серии ширина оперированного брюшка икроножной мышцы в 2,93 раза меньше, чем в норме. В опытной серии данный показатель, напротив, в 2,54 раза превышает значения, полученные в контроле ($p < 0,05$). Однако, данный показатель в ранние сроки определяется объемом губчатого трансплантата (рис. 3).

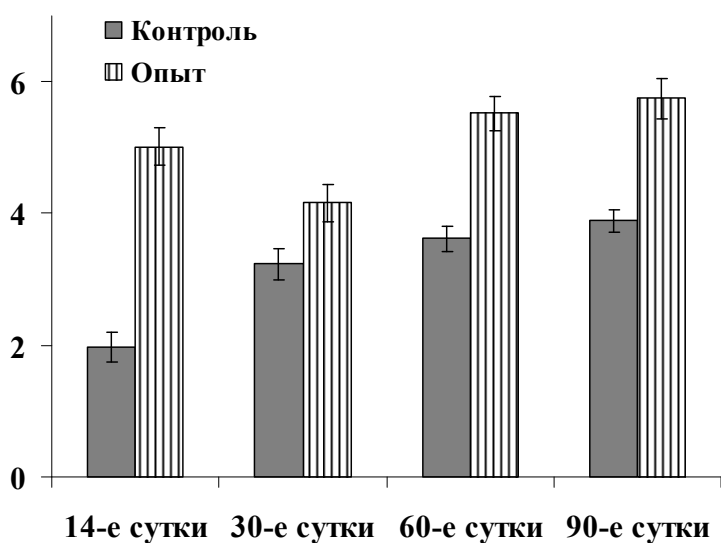


Рис. 3. Ширина брюшка икроножной мышцы после нанесения субтотального дефекта и пластики соединительнотканными трансплантатами в двух сериях экспериментов. Ось ординат: показатель $\pm \sigma$, мм. Ось абсцисс: сроки эксперимента.

Мембранный трансплантат в двух сериях экспериментов в ранние сроки ограничивает оперированную область мышечного брюшка от формирования рубцовых сращений, что подтверждается при макро-микрорепаировании. Использование указанного трансплантата при решении подобных задач обосновано работами других авторов. Так, А.М. Стасюк (2002) предложил метод профилактики рубцовых сращений с использованием мембранного ограничите-

ля серии Аллоплант при восстановлении сухожилий в зоне синовиального влагалища. Необходимо отметить положительный опыт применения мембранных ограничителей серии Аллоплант при указанных операциях - положительное решение о выдаче патента на изобретение от 20.01.2012 по заявке № 2010147383/14 (Мулдашев Э.Р. с соавт., 2011).

Таким образом, изучение материала ранних сроков в двух сериях высветило универсальный характер клеточных механизмов, обеспечивающих репаративные процессы в скелетной мышце после нанесения субтотального дефекта на мышечное брюшко и подсадку соединительнотканый трансплантатов. В более поздние сроки (30-е сутки) обнаруживается различная направленность процессов заместительной и репаративной регенерации в двух представленных сериях. Так, в контрольной серии часть сухожильного трансплантата, расположенная в поперечнополосатой мышечной ткани соответственно вектору нагрузки, постепенно замещается плотной оформленной соединительной тканью с преимущественно однонаправленной ориентацией коллагеновых волокон. Одновременно определяется фиксация мышечных волокон и структур эндомизия на аллогенном биоматериале. Подобное формирование опоры мышечных волокон на аллотрансплантате было описано Э.А. Салиховым (2005). В опытной серии сухожильный трансплантат частично замещен плотной оформленной соединительной тканью. При этом периферические участки данного трансплантата резорбируются и замещаются хаотично, формируя структуры с поливекторной ориентацией коллагеновых волокон. Следует отметить сходную динамику замещения сухожильного трансплантата в двух сериях экспериментов.

На наш взгляд 30-е сутки являются ключевыми для репаративной регенерации поперечнополосатой мышечной ткани в проведенных экспериментах. Так, в опытной серии в результате миграции и пролиферации эндотелиоцитов и фибробластов в каналы губчатого трансплантата прорастают сосуды и рыхлая неоформленная соединительная ткань, создавая условия для регенерации поперечнополосатой мышечной ткани. В контрольной серии процессы васкулогенеза протекают менее интенсивно, что сопровождается преимущественной пролиферацией соединительной ткани. По мнению Б.М. Карлсона (1986), репаративные процессы блокируются до восстановления васкуляризации в очаге повреждения.

Наблюдаемые явления наиболее демонстративно отражены в общности динамики морфометрических показателей ОПМТ и СППК. Так, по результатам расчета СППК нами обнаружено, что в ранние сроки данный показатель в двух

сериях экспериментов значительно снижен в результате отсутствия собственных тканей реципиента в указанные сроки в области трансплантации (рис. 4). Возрастание СППК на 30-е сутки в опытной серии соответствует пику пролиферации МСЦ и миобластоподобных клеток по данным электронной микроскопии и является одним из ведущих факторов репаративной регенерации поперечнополосатой мышечной ткани. В финале репаративных процессов (90-е сутки) в области дефекта скелетной мышцы в опытной серии СППК превышает нормальные значения в интактной мышце в 1,29 раза ($p < 0,05$) и значения, полученные в контроле в 1,47 раза ($p < 0,05$).

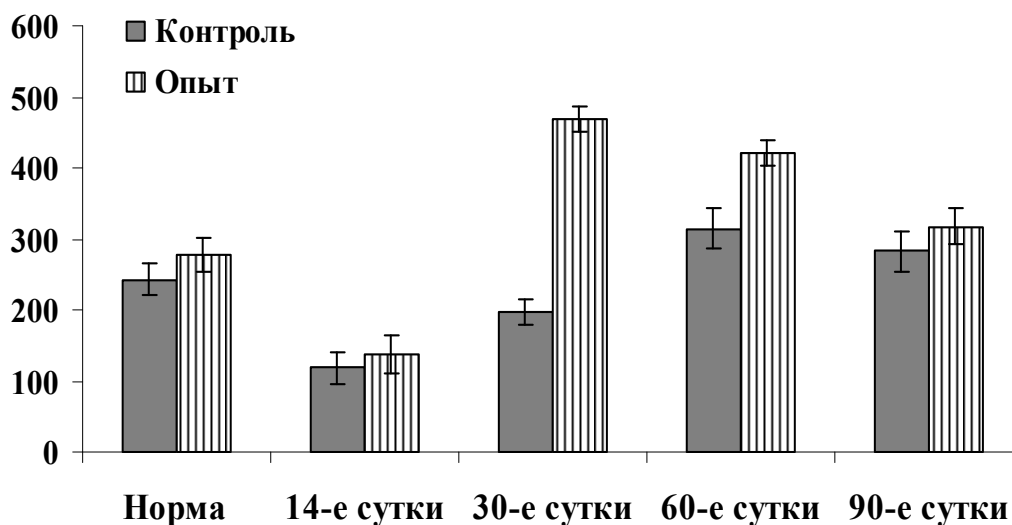


Рис. 4. Суммарная площадь просвета капилляров регенерата в брюшке икроножной мышцы после нанесения субтотального дефекта и пластики сухожильным и мембранным трансплантатами (контрольная серия). Ось ординат: показатель $\pm\sigma$, мкм². Ось абсцисс: сроки эксперимента

По результатам световой микроскопии на 30-е сутки в просвете каналов губчатого трансплантата обнаруживаются миобластоподобные клетки, расположенные пристеночно. По-видимому, указанные клетки являются результатом дифференцировки миосателлитоцитов (МСЦ). Так, по данным Р.К. Данилова (2007), после выхода МСЦ в межмышечное пространство и митотического деления происходит формирование миобластов. По мнению Wang J. et al. (2009) и Lerret C. et al. (2009), приведенные механизмы являются ведущими в репаративном миогенезе у взрослого человека. На ультраструктурном уровне нами отслежены этапы дифференцировки миосателлитоцитов до миоцитов, зарегистрированы картины делящихся миобластов, а также миоцитоподобные клетки с пучками мышечных фибрилл в цитоплазме. Позднее обнаруживались миоци-

топодобные клетки, формирующие новый симпласт. Важно отметить присутствие секретирующих макрофагов в просвете каналов губчатого трансплантата. Пик активности данных клеток совпадает с пиком васкулогенеза – 30-е сутки, что, по-видимому, обусловлено регулирующим влиянием аллотрансплантатов на секреторную функцию макрофагов в частности на репертуар цитокинов (Лебедева А.И., 2004). Также известно, что присутствие секретирующих макрофагов при нормальных титрах TNF является фактором оптимизации репаративного миогистогенеза (Chen S.E. et al., 2007; Palacio D., 2010). Относительная плотность мышечной ткани в области подсадки сухожильного трансплантата (контрольная серия) на 30-е сутки в 1,37 раза выше ($p < 0,05$), чем в опытной серии (рис. 5). Возможно, наблюдаемые явления объясняются относительно беспрепятственным прорастанием мышечных волокон в область повреждения в контрольной серии. Однако уже на 60-е сутки в опытной серии показатель ОПМТ в 1,22 раза выше в сравнении с контрольной серией ($p < 0,05$). На 90-е сутки эта разница ещё более увеличивается и достигает значения 1,48 ($p < 0,05$).

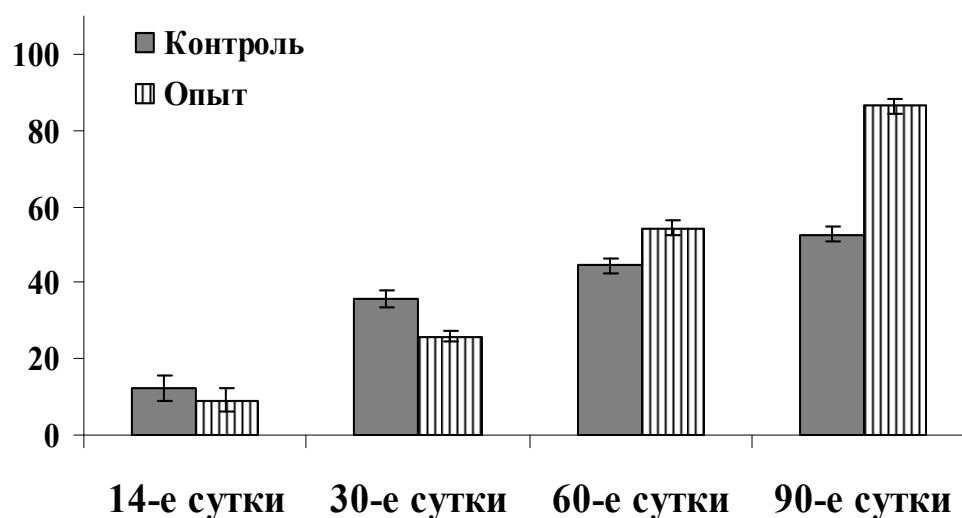


Рис. 5. Относительная плотность скелетной мышечной ткани и соединительной ткани регенерата в брюшке икроножной мышцы после нанесения субтотального дефекта и пластики соединительнотканными трансплантатами в двух сериях экспериментов.

Ось ординат: показатель, $\% \pm \sigma$. *Ось абсцисс:* сроки эксперимента.

Как видно из рисунков 4 и 5 процессы восстановления поперечнополосатой мышечной ткани в опытной серии наиболее выражены, начиная с 60-х суток эксперимента. В указанные сроки в контрольной серии формируется мышечно-соединительнотканый регенерат (МСР) со значительным содержанием

плотной волокнистой соединительной ткани. При этом для контрольной серии характерно равномерное увеличение коэффициента анизотропии (КА) в ходе эксперимента, что обусловлено значительным содержанием плотной оформленной соединительной ткани в МСР. Плотная оформленная волокнистая соединительная ткань имеет более высокий КА в сравнении со скелетной мышечной тканью (Nishimura T., 1996). Представленные данные согласуются с результатами работы Х.Х. Мурзабаева (2002), полученными на модели огнестрельной кожно-мышечной раны. При этом КА в опытной серии на 90-е сутки в 1,15 раза ниже значений, полученных в контроле ($p < 0,05$). Данный факт, объясняется относительно низким содержанием коллагеновых структур в эндо- и перимизии МСР в опытной серии.

Учитывая различный состав формирующегося МСР в двух сериях экспериментов всё же важно отметить общность механизмов пролиферации поперечнополосатой мышечной ткани в исследуемые сроки. Так, изучение толщины новообразованных мышечных волокон в указанных сериях показало отсутствие статистически значимых отличий. Однако обнаружена тенденция к увеличению толщины мышечных волокон начиная с ранних сроков и заканчивая 90-ми сутками эксперимента. В указанные сроки выбранный показатель в опытной серии в 1,1 раза выше ($p < 0,05$), чем в контрольной (рис. 6).

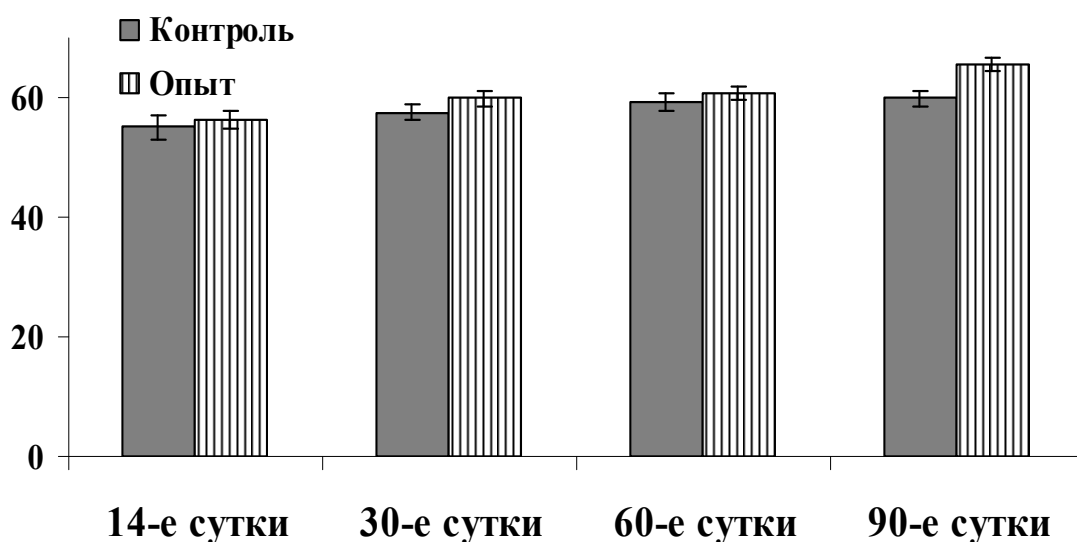


Рис. 6. Толщина мышечных волокон регенерата в брюшке икроножной мышцы после нанесения субтотального дефекта и пластики соединительнотканью трансплантами в двух сериях экспериментов. Ось ординат: показатель $\pm \sigma$, мкм. Ось абсцисс: сроки эксперимента

Мембранный трансплантат используемый в качестве ограничителя в контрольной и опытной сериях на 60-е сутки замещается плотной волокнистой соединительной тканью с разнонаправленной ориентацией коллагеновых волокон, моделируя фасциальный футляр оперированной области. Результаты макро-микротрепарирования в исследуемые сроки указывают на восстановление скользящей функции оперированной мышцы в обеих сериях экспериментов. Так, по мнению А.Б. Ходоса (1970), динамическая работа скелетной мышцы зависит не только от её физиологического поперечника и длины мышечных волокон, но также и от сопротивления окружающих тканей. Известно, что вспомогательный аппарат скелетной мышцы, представленный фасциальными образованиями, повышает эффективность её работы (Lang, 1962; Кованов В.В., 1967).

В финале процессов заместительной регенерации (90-е сутки) в контрольной серии обнаруживается структура, подобная двубрюшной мышце. При этом сухожилие, соединяющее два реконструированных брюшка, представляет собой замещенный сухожильный трансплантат. В опытной серии на данном этапе восстановительных процессов в области дефекта определяется органотипический регенерат скелетной мышцы. При этом в результате замещения стенок губчатого трансплантата сформированы структуры эндо- и перимизия. Данный факт представляется нам особенно важным, так как, по мнению Р.К. Данилова (2007) ориентация молодых мышечных волокон в зоне репаративного миогистогенеза определяется пространственным расположением предсуществующих пучков коллагеновых волокон. В опытной серии волокнистый компонент предсуществующей соединительной ткани имеет упорядоченное расположение пучков коллагеновых волокон за счет формообразующей роли каналов губчатого трансплантата (рис. 7). В поздние сроки в области дефекта скелетной мышцы в опытной серии КО в 1,42 раза выше, чем в контроле ($p < 0,05$). Результаты в контрольной серии согласуются с данными С.Н. Чемидронова (2008) о том, что новообразованная мышечная ткань в области дефекта мышечного брюшка, отличается от нормальной разнонаправленным расположением мышечных волокон и преобладанием соединительнотканной стромы. Подобный регенерат, выполняя заместительную функцию, не компенсирует сократительную функцию скелетной мышцы.

Для оценки функционального состояния икроножной мышцы в опытной серии выполнены стимуляционная и игольчатая ЭНМГ. В отдаленные сроки в результате реиннервации новообразованных мышечных волокон спонтанная

активность в исследуемой мышце не регистрировалась. Более того, в результате регенерации структур скелетной мышцы, выявленной при морфологических исследованиях достигнуто восстановление амплитуды М-ответа икроножной мышцы на 85% от нормы. Учитывая изложенное, следует говорить о функциональной адекватности реконструированной мышцы как органа.

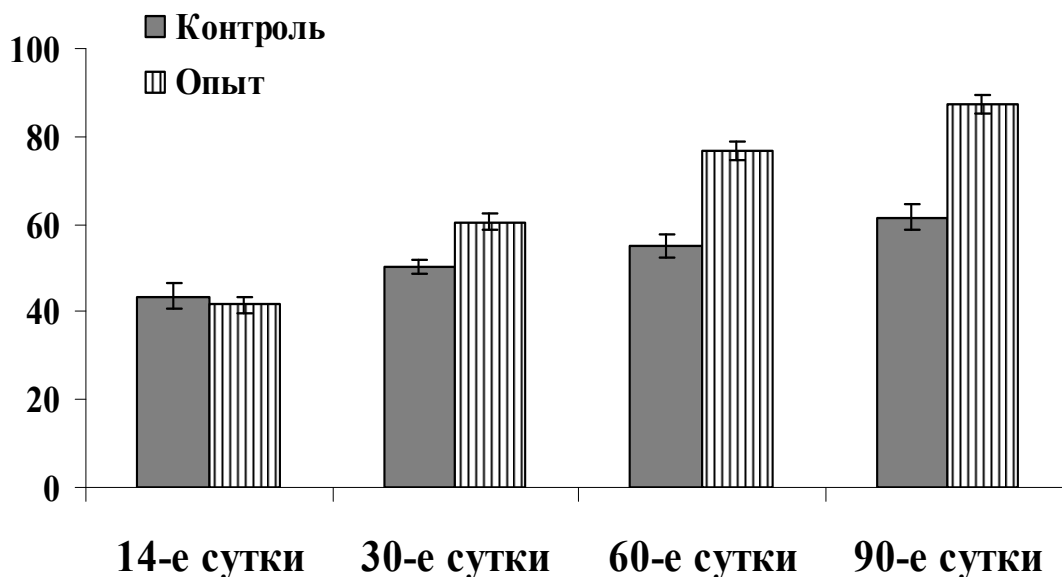


Рис. 7. Коэффициент однонаправленной ориентации мышечных волокон регенерата в брюшке икроножной мышцы после нанесения субтотального дефекта и пластики соединительнотканными трансплантатами в двух сериях экспериментов. Ось ординат: показатель $\pm\sigma$, %. Ось абсцисс: сроки эксперимента.

Таким образом, в контрольной серии сухожильный трансплантат позволяет изменить характер функциональных нагрузок на мышцу с воссозданием аналога двубрюшной мышцы. При этом вокруг сухожильного трансплантата в каждом мышечном брюшке формируется весь комплекс соединительнотканых структур, характерных для мышцы как органа. Ведущим фактором подобной реконструкции является фиксация мышечных волокон через структуры эндо- и перимизия на внутриорганно расположенном аллогенном трансплантате (табл. 1, 2). Наблюдаемые явления можно рассматривать как адаптивную перестройку с изменением структурно-функциональных параметров мышцы (Лесгафт П.Ф., 1897; Гурфинкель В.С., 1985; Сапин М.Р., 1993).

Полученные нами данные подтверждают результаты более ранних работ о моделирующей роли канализированных (губчатых) трансплантатов (Корнилова Г.Г., 2005; Мулдашев Э.Р. с соавт., 2007). Формообразовательные процес-

сы зависят от того в каком тканевом ложе и функциональном состоянии находится биоматериал. Так, в зависимости от характера тканевого ложа на стенках ячеек губчатого биоматериала пролиферируют эндотелиальные клетки, специализированный эпителий или клетки фибробластического дифферона – таблица 1, 2. В нашем исследовании показана пролиферация миобластоподобных клеток в просвете каналов канализованного трансплантата.

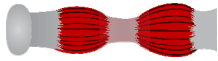
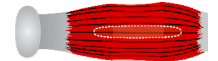
Таблица 1

Морфогенетическая роль соединительнотканых биоматериалов при экспериментальном моделировании дефекта скелетной мышцы

Используемый трансплантат	Характер формирующего регенерата
Аллогенный сухожильный трансплантат	Моделирование дополнительного сухожилия с формированием опоры для мышечных волокон
Комбинированный трансплантат	Формирование мышечно-соединительнотканного регенерата – аналога мышечного брюшка
Мембранный ограничитель	Моделирование фасциального футляра мышцы и скользящих структур

Таблица 2

Морфофункциональная характеристика воссоздаваемых при аллотрансплантации анатомических структур

Трансплантат	Ширина восстанавливаемых структур МСР на 90-е сутки эксперимента		ОПМТ на 90-е сутки в МСР, %	Формируемая анатомическая структура
	абсолютные значения, мм	в % от нормы		
Аллогенный сухожильный трансплантат	3,9±0,17	≈67	52,7±2	 Двубрюшная мышца
Губчатый (канализированный) трансплантат	5,75±0,3	≈99	86,3±1,8	 Брюшко скелетной мышцы

Представленные результаты экспериментальных исследований позволяют заключить, что одним из ведущих факторов, определяющих направленность и динамику морфогенетических процессов, является структура трансплантата: аллогенный сухожильный трансплантат моделирует формирование плотных оформленных соединительнотканых структур, канализованный трансплантат приводит к образованию мышечно-соединительнотканного регенерата, мембранный трансплантат создает условия для восстановления фасциального футляра мышцы с комплексом скользящих оболочек.

Взаимодействие факторов трансплантата и тканевого ложа (реципиента) позволяет реализовать широкий диапазон регенеративных возможностей, заложенных в каждом из структурных элементов мышцы как органа.

ВЫВОДЫ

1. Трансплантат аллогенного сухожилия и его губчатая модификация в комбинации с мембранным трансплантатом позволяют смоделировать соединительнотканную строму скелетной мышцы и, тем самым, оптимизировать репаративную регенерацию мышцы. При этом каждый трансплантат выполняет свою формообразующую роль.

2. Сухожильный трансплантат при подсадке в область дефекта икроножной мышцы и ориентации соответственно вектору функциональной нагрузки постепенно замещается плотной оформленной соединительной тканью.

3. Мышечно-соединительнотканый регенерат, полученный в финале процессов заместительной регенерации в области дефекта скелетной мышцы в контрольной серии, имеет примерно одинаковое содержание плотной оформленной соединительной ткани и скелетной мышечной ткани, что проявляется увеличением коэффициента оптической анизотропии в 2,35 раза от изначальных величин. Новообразованные мышечные волокна имеют преимущественно однонаправленную ориентацию только вблизи сухожильного трансплантата.

4. Применение аллогенного губчатого трансплантата для замещения дефекта скелетной мышцы в комбинации с аллогенными сухожильным и мембранным трансплантатами, позволяет добиться формирования мышечно-соединительнотканного регенерата с преобладанием скелетной мышечной ткани в процентном отношении ($86,34 \pm 1,79$ % на 90-е сутки, что в 1,64 раза выше ($p < 0,05$) в сравнении с контролем).

5. Одним из факторов формирования адекватного регенерата в зоне объемного дефекта скелетной мышцы после пластики соединительнотканым губчатым биоматериалом является относительно раннее восстановление кровоснабжения. На 30-е сутки в зоне трансплантации регистрируется увеличение суммарной площади просвета капилляров в 1,69 раза в сравнении со значениями, полученными в интактном мышечном брюшке ($p < 0,05$). В финале репаративных процессов сохраняется относительно высокий уровень СППК, чем в норме ($p > 0,05$).

6. В отдаленные сроки на фоне применения комбинации аллогенных соединительнотканых трансплантатов наблюдается почти полное восстановление утраченного объема мышечного брюшка $96,5 \pm 2,2\%$ от нормы. Ширина брюшка икроножной мышцы в области смоделированного дефекта и последующей миоластики на 90-е сутки эксперимента в 1,48 раза больше значений, полученных в контроле. По результатам электронейромиографии амплитуда М-ответа оперированных мышц в опытной серии на 90-е сутки восстанавливается на 85% от нормальных значений, в сформированном регенерате не регистрируется спонтанная активность, что указывает на отсутствие денервированных мышечных волокон.

7. При использовании комбинации губчатого и сухожильного аллотрансплантатов для восполнения дефекта мышечного брюшка реализуются два механизма восстановления мышечной ткани, регистрируемые на электронно-микроскопическом уровне. С одной стороны происходит пролиферация жизнеспособных поврежденных мышечных волокон из краевой зоны мышечного дефекта в каналы губчатого трансплантата. Вторым механизмом является ранняя миграция (7-е сутки) миосателлитов в губчатый трансплантат, их фиксация на стенках каналов биоматериала и пролиферация с формированием нового мышечного симпласта.

8. Мембранный трансплантат в ранние сроки ограничивает область дефекта скелетной мышцы от инвазии клеток соединительной ткани, а в отдаленные сроки замещается плотной оформленной соединительной тканью с поливекторной ориентацией коллагеновых волокон, формируя скользящие структуры.

Практические рекомендации:

1. При использовании комбинированного аллогенного трансплантата (губчатый и сухожильный биоматериалы) в клинической практике при выпол-

нении миотендопластики необходимо наличие мышечной ткани на проксимальной и дистальной культях скелетной мышцы.

2. Применение аллогенного мембранного трансплантата для окутывания области реконструктивной или восстановительной операции на скелетной мышце способствует формированию адекватного регенерата скелетной мышечной ткани и является методом профилактики образования рубцовых сращений с окружающими тканями.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. **Щербаков, Д.А.** Применение биоматериалов для стимуляции репаративной регенерации сухожилий / **Д.А. Щербаков** // Вопросы теоретической и практической медицины: сб. матер. 70-й юбил. итог. Респуб. науч. конф. студентов и молодых учёных с междунар. участием. – Уфа, 2005. – С. 30–31.

2. Восстановление структуры сухожилий с применением биоматериалов / Э.Р. Мулдашев, Р.Т. Нигматуллин, **Д.А. Щербаков** [и др.] // Регенеративная хирургия. – 2005. – Режим доступа: <http://www.reg-surgery.ru/archives/archives2005.htm#MER>.

3. Тендопластика с использованием аллогенных биоматериалов: краткий очерк / Р.Т. Нигматуллин, В.Г. Гафаров, **Д.А. Щербаков** [и др.]. – Уфа: Здоровоохранение Башкортостана, 2005. – 52 с.

4. Применение аллогенных биоматериалов в регенеративной хирургии сухожилий и связок / Э.Р. Мулдашев, Р.Т. Нигматуллин, **Д.А. Щербаков** [и др.] // Клиника, диагностика и лечение больных с врожденными аномалиями развития: матер. Всерос. науч.-практич. конф. – Курган, 2007. – С. 132–133.

5. Ремоделирование скелетных мышц с использованием биоматериалов Аллоплант / Э.Р. Мулдашев, Р.Т. Нигматуллин, **Д.А. Щербаков** [и др.] // Клиника, диагностика и лечение больных с врожденными аномалиями развития: матер. Всерос. науч.-практич. конф. – Курган, 2007. – С. 76–77.

6. Некоторые закономерности биодеградации трансплантатов / Р.Т. Нигматуллин, В.Г. Гафаров, **Д.А. Щербаков** [и др.] // **Морфологические ведомости.** – 2007. – № 3-4. – С. 130–132.

7. Применение биоматериалов Аллоплант для стимуляции регенерации сухожилий и связок / Э.Р. Мулдашев, В.Г. Гафаров, **Д.А. Щербаков** [и др.] // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: матер. симп. – М., 2007. – С. 87–88.

8. Трансплантационные технологии в реконструктивной и восстановительной хирургии скелетных мышц / Э.Р. Мулдашев, Р.Т. Нигматуллин, **Д.А. Щербаков** [и др.] // IV Всероссийский съезд трансплантологов памяти академика В.И. Шумакова: тез. докл. – М., 2008. – С. 259–260.

9. Биоматериалы Аллоплант в регенеративной хирургии мягкого остова / Э.Р. Мулдашев, Р.Т. Нигматуллин, **Д.А. Щербаков** [и др.] // **Вестник ОГУ.** – 2008. – № 12. – С. 100–103.

10. Способ реконструкции скелетной мышцы с использованием аллосухожильных трансплантатов / Э.Р. Мулдашев, Н.Д. Кульбаев, **Д.А. Щербаков** [и др.] // Морфологические ведомости. – 2009. – № 3. – С. 210–211.

11. Способ лечения поврежденного сухожилия в зоне синовиального влагалища / Э.Р. Мулдашев, Н.Н. Аслямов, **Д.А. Щербаков** [и др.] // **Вестник ОГУ.** – 2010. – № 12, спец. вып. – С. 253-255.

12. Реконструктивная хирургия скелетных мышц / Э.Р. Мулдашев, Р.Т. Нигматуллин, **Д.А. Щербаков** [и др.] // **Вестник ОГУ.** – 2010. – № 12, спец. вып. – С. 250–252.

13. Мулдашев, Э.Р. Роль функциональной нагрузки в формировании регенерата при аллотрансплантации сухожилия / Э.Р. Мулдашев, Н.Н. Аслямов, **Д.А. Щербаков** // **Ученые записки СПбГМУ им. И.П. Павлова.** – 2011. – Т. XVIII, № 2. – С. 92–93.

14. Восстановление скелетной мышцы при миопластике сухожильными аллотрансплантатами различной структуры / Э.Р. Мулдашев, Н.Д. Кульбаев, **Д.А. Щербаков** [и др.] // **Вестник ОГУ.** – 2011. – № 14. – С. 265–267.

Патенты:

1. Мулдашев Э.Р., Нигматуллин Р.Т., **Щербаков Д.А.** и др. Способ стимуляции репаративной регенерации сухожилия и связок. Патент № 2284768. Российская Федерация. Заявка № 2005109596/14. Зарегистрировано Бюл. № 28 от 10.10.2006.

2. Мулдашев Э.Р., Нигматуллин Р.Т., **Щербаков Д.А.** и др. Способ восстановления функции поврежденной скелетной мышцы. Патент № 2302215. Российская Федерация. Заявка № 2005126878/14. Бюл. №19 от 10.07.2007.

3. Мулдашев Э.Р., Галимова В.У., **Щербаков Д.А.** и др. Способ лечения растяжений внесуставных связок и сухожилий. Патент № 2445986. Российская Федерация. Заявка № 2010147379/14. Бюл. № 16 от 27.03.2012.

4. Мулдашев Э.Р., Галимова В.У., **Щербаков Д.А.** и др. Способ лечения поврежденного сухожилия с сохранением скользящей функции. Заявка № 2010147383/14. Положительное решение от 20.01.2012.

Список сокращений

КА – коэффициент оптической анизотропии

КО – коэффициент однонаправленной ориентации мышечных волокон

МСР – мышечно-соединительнотканый регенерат

МСЦ – миосателлитоцит

ОПМТ – относительная плотность мышечной ткани

СППК – суммарная площадь просвета капилляров

ЭНМГ – электронейромиография

ЩЕРБАКОВ Дмитрий Александрович

**АНАТОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МИОТЕНДОПЛАСТИКИ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ
АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОВ**

Автореферат

**диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук**

Издательская лицензия № 06788 от 01.11.2001 г.

ООО «Издательство «Здравоохранение Башкортостана»
450000, РБ, г. Уфа, а/я 1293; тел.: (347) 250-81-20; тел./факс (347) 250-13-82.

Подписано в печать 11.04.2012 г.

Формат 60×84/16. Гарнитура Times New Roman.

Бумага офсетная. Отпечатано на ризографе.

Усл. печ. л. 1,4. Уч.-изд. л. 1,5.

Тираж 100. Заказ № 698.

