

# Морфологические основы радиационной устойчивости соединительнотканых трансплантатов

О.Р. ШАНГИНА

*РЕФЕРАТ.* Разработана и предложена для внедрения в практику тканевых банков технология селективной радиационной стерилизации соединительнотканых биоматериалов, позволяющая сохранять их структуру, физико-механические свойства и способность стимулировать регенераторные процессы.

*КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:* тканевой банк, производство аллотрансплантатов, радиационная стерилизация, соединительнотканые биоматериалы.

## ВВЕДЕНИЕ

### *Актуальность проблемы*

Современную восстановительную хирургию трудно представить без тканевых трансплантатов, с использованием которых выполняются многие реконструктивные операции. Тканевые трансплантаты, используемые для пересадок, согласно международной терминологии трансплантации тканей, принятой в г. Вене в 1967 году, определяются как ауто-, алло- и ксенотрансплантаты (Коваленко П.П., 1975). Оптимальные результаты операций достигаются с применением аллогенных трансплантатов, или биоматериалов\*, вследствие того, что они вызывают наименьшую иммунную реакцию и стимулируют процессы репаративной регенерации тканей (Salamon A., Hamori J., 1977; Versen R. et al.,

1990; Bujia J. et al., 1993; Muldashev E.R. et al., 1999). Известно, что консервированные трансплантаты нежизнеспособны и после пересадки лизируются и замещаются новообразованной тканью реципиента (Seiffert K.E., 1967; Коваленко П.П., 1975; Мулдашев Э.Р. и соавт., 1978). Подбирая для трансплантации ткани с различной фиброархитектоникой, физико-механическими свойствами и гистохимическим составом, можно прогнозировать свойства регенерата, замещающего пересаженный биоматериал (Мулдашев Э.Р., 1994; Нигматуллин Р.Т., 1996; Muldashev E.R. et al., 1999; Муслимов С.А., 2000).

В настоящее время, для обеспечения возросших потребностей лечебных учреждений в тканевых трансплантатах, во многих странах созданы специализированные тканевые банки, занимающиеся заготовкой, консервацией и стерилизацией кадаверных тканей. В тканевых банках Польши, Германии, Чехии, Бельгии, Франции, США и других стран производится заготовка таких соединительнотканых трансплантатов, как кости, сухожилия, хрящ, твердая мозговая оболочка. Все известные методы физико-химической обработки и консервации направлены

\* Развитие технологий тканевых пересадок привело к созданию трансплантатов с модифицированной структурой и гистохимическим составом. При их консервации и стерилизации происходит структурная перестройка, а также изменение гистохимического состава. Многие авторы для определения подобных трансплантатов используют термин «биоматериал». В данной работе оба термина «биоматериалы» и «трансплантаты» используются нами как синонимы

на снижение антигенных свойств биоматериалов, при сохранении их коллагенового каркаса. При оптимальном методе физико-химического воздействия, трансплантаты должны иметь свободную от клеток волокнистую структуру (Beigel A. et.al., 1991; Davies A.H., Parums D.V., 1992; Allaire E. et.al., 1994).

Как известно, биологические ткани являются средой, способной поддерживать в жизнеспособном состоянии многие микроорганизмы и вирусы, что предъявляет повышенные требования к биологической безопасности этих тканей (Pruss A., Kao M., Gohs U. et al. 2002). Для достижения безопасности кадаверных тканей используют метод радиационной стерилизации, который считается самым эффективным (Каушанский Д.А. и соавт., 1984; Туманян М.А., 1989; Пономарев В.Н. и соавт., 1993; Pruss A., Baumann B., Seibold M. et al. 2001). Высокая бактерицидная активность и большая проникающая способность радиационного излучения делают этот метод стерилизации наиболее перспективным по сравнению с другими методами. Поиск оптимальных радиационных технологий продолжается, при этом результаты исследований ведущих тканевых банков России и Европы во многом отличаются и нередко противоречат друг другу (Савельев В.И., 2001; Лекишвили М.В., 2005; Dziedzic-Goclawska A., 2000; Verzen R., 2003). Теоретическая разработка проблем радиационной стерилизации в практике тканевых банков существенно отстает от интенсивно развивающейся клинической и экспериментальной трансплантологии. Стандарты, регламентирующие дозы радиационной стерилизации, разработанные в России и Европейской ассоциации тканевых банков (ЕАТБ), не учитывают структурных особенностей самих биологических тканей и методов их консервации. Радиационная стерилизация часто приводит к нежелательным структурным изменениям в биоматериалах (Belkoff S.M., 1992; Bogdansky S. et.al., 2004; Dziedzic-Godawska A. et.al., 2004). Выбор вида и дозы облучения для стерилизации – это компромисс между радиационным воздействием, необходимым для инактивации микроорганизмов, и сохранением структуры биоматериалов. Поэтому необходимо оптимальное сочетание методов обработки и стерилизации для максимального сохранения биологических свойств биоматериалов. Речь идет о таких свойствах соединительнотканых трансплантатов, как иммуногенность, способность стимулировать процессы репаративной регенерации, физико-механические свойства, которые в значительной степени опре-

деляют результаты их применения в клинической практике. Научная разработка технологии консервации и стерилизации аллогенных трансплантатов, позволяющей сохранить весь указанный спектр биологических свойств, является одной из наиболее актуальных проблем современной трансплантологии и восстановительной хирургии (Лекишвили М.В., 2001; Савельев В.И., 2001). На сегодняшний день отсутствует единая теория радиационной устойчивости биоматериалов, которая учитывала бы их структуру, гистохимический состав, метод консервации и цель трансплантации. В этой связи весьма перспективной представляется разработка таких методов радиационной стерилизации, которые, с одной стороны гарантировали бы полную стерильность биоматериалов, а с другой – сохранение их биологических свойств.

### *Цель исследования*

Выявить факторы, определяющие радиационную устойчивость различных по структуре соединительнотканых биоматериалов и разработать методы селективной радиационной стерилизации, сохраняющие их фиброархитектонику, физико-механические свойства и способность стимулировать процессы регенерации.

### *Задачи исследования*

1. Исследовать радиационную устойчивость соединительнотканых биоматериалов с различной фиброархитектоникой.
2. Изучить структуру и физико-механические свойства биоматериалов после физико-химической обработки и радиационной стерилизации в различных режимах и дозах.
3. Изучить особенности резорбции и замещения радиационно-стерилизованных биоматериалов при экспериментальной имплантации.
4. Исследовать инициальную контаминацию биоматериалов на различных стадиях физико-химической обработки и стерилизации.
5. Разработать комплекс адекватных морфологических методов для контроля структурных изменений соединительнотканых биоматериалов после радиационной стерилизации.
6. Разработать методические рекомендации для тканевых банков по радиационной стерилизации соединительнотканых биоматериалов с целью сохранения их биологических свойств.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Материал для исследования* был получен от 151 трупа людей обоего пола, скоропостижно скончавшихся в возрасте от 20 до 55 лет. Трансплантаты были изготовлены из различных анатомических структур: сухожилий подвздошно-реберной мышцы, фиброзной капсулы почки, подкожной жировой клетчатки и дермы опорных участков стопы, реберного хряща.

Забор донорских тканей проводили в чистых, но не стерильных помещениях. Механическая обработка тканей заключалась в очистке материала от остатков мышечной ткани, крови и жира. Далее, в зависимости от *физико-химической обработки*, все ткани делились на группы. Первая группа – это нативные ткани, т.е. ткани, не прошедшие какую-либо физико-химическую обработку. Вторая группа – это нативные ткани, подвергнутые процессу лиофилизации. Для получения лиофилизированных биоматериалов исходные биологические ткани замораживали в криогенной камере до  $-45^{\circ}\text{C}$  и высушивали под вакуумом (остаточное давление 10 мТорр) при помощи лиофильной сушилки Dry Winner DW-6, (Heto Holten, Дания).

В третьей группе донорские ткани обрабатывали и консервировали по технологии Аллоплант, разработанной во Всероссийском Центре глазной и пластической хирургии г. Уфы (патент РФ №2189257). Данная технология заключается в следующем – донорский материал подвергали многоступенчатой физико-химической обработке, которая позволяет достигнуть мембранолиза и способствует экстракции наиболее иммуногенных компонентов тканей, с сохранением коллагенового каркаса. На первом этапе аллогенные соединительнотканые материалы подвергали механической очистке от крови, остатков прилегающих тканей и посторонних загрязнений и промывали под проточной водой в течение 15-30 минут. На втором этапе ткани последовательно обрабатывали растворами детергентов (додецилсульфатом натрия, цетилперидиния хлоридом и Тритоном X-100), с промежуточным многократным ополаскиванием в 0,9% растворе натрия хлорида. Время экспозиции и концентрации растворов подбирали индивидуально, в зависимости от вида обрабатываемой ткани и ее первоначального биохимического состава. Следующий этап заключался в обезжиривании ткани, коагулировании и экстрагировании из ее матрикса остаточных бел-

ков с помощью рассчитанных количеств диэтилового эфира и этилового спирта в течение 1 – 5 часов. Затем, после полного удаления органических растворителей, обработанные ткани консервировали в 70% этиловом спирте.

И четвертая группа – это ткани, прошедшие химическую обработку по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированные указанным выше методом.

*Радиационную стерилизацию* полученных соединительнотканых трансплантатов проводили на радиационно-технологическом комплексе на базе линейного ускорителя электронов ЛУ-10-20, разработанном и изготовленном в Российском Федеральном Ядерном центре (г.Саров). Для стерилизации исследуемых биоматериалов применяли два вида излучения – поток быстрых электронов и тормозное (гамма) – излучение. Образцы облучали до уровней в 15; 25; 40 и 60 кГр при разном темпе набора доз. Для электронного излучения – 5 кГр/сек., для тормозного излучения – 0,0033 кГр/сек. Продолжительность стерилизации зависела от вида и дозы излучения. Облучение потоком быстрых электронов проходило следующим образом: дозой 15 кГр в течение 3 секунд, дозой 25 кГр – 5 секунд, 40 кГр – 8 секунд, 60 кГр – 12 секунд. Стерилизация гамма-излучением дозой 15 кГр продолжалась 1 час 25 минут, дозой 25 кГр – 2 часа 10 минут, дозой 40 кГр – 3 часа 30 минут, дозой 60 кГр – 5 часов. Все образцы облучали однократно. В качестве контроля использовали ткани, не подвергнутые радиационному воздействию.

Для исследования структурных изменений, происходящих в соединительнотканых биоматериалах после воздействия ионизирующего излучения использовали *комплекс морфологических методов*.

Гистологические срезы биоматериалов окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, по Вейгерту и орсеином по методу Унна-Тенцера. Микроскопические исследования проводили с использованием световых микроскопов JENVAL и AXIO IMAGER – Z1 (C. Zeiss, Германия).

Изучение фиброархитектоники биоматериалов проводили с использованием способа количественного поляризационно-оптического анализа. Проводили поляризационную микроскопию неокрашенных гистологических срезов толщиной 10 мкм с использованием микроскопа МИН-8 и цифровой фотонасадки Nikon Coolpix 4500 при скрещенных фильтрах. Полученные микрофотографии обрабатывали с помощью лицензионной программы Biovision Professional («Westmedica», Австрия).

Производили измерение площади оптически активных объектов препарата по показателям двойного лучепреломления. В данной программе производили расчет отношения площади оптически активных объектов к общей площади выбранного участка. Затем обработанные данные переводили в программу Statistica 5.5. для построения графиков.

Для изучения структуры волокнистого остова биоматериалов использовали также метод импрегнации нитратом серебра по Минигазимову Р.С. (Патент РФ № 2270446 «Способ исследования рельефа поверхностей гистологических препаратов»). Суть метода заключается в импрегнации препаратов серебром с его полным восстановлением, что придает светоотражательную способность всем импрегнированным структурам. Препараты исследовали с помощью микроскопа AMPLIVAL (С. Zeiss, Германия) с темнопольным эпиобъективом, позволяющим визуализировать объемную картину рельефа поверхности препаратов.

Для исследования ультраструктурных изменений использовали метод сканирующей электронной микроскопии. Подготовка образцов включала обезвоживание их в спиртах возрастающих концентраций, обезжиривание в ацетоне и высушивание с последующим напылением слоем платины в ионно-распылительной установке (Волкова О.В. с соавт., 1987). Образцы приклеивали на столики токопроводящим клеем и исследовали с помощью микроскопа JSM-840 (Jeol, Япония).

*Физико-механическим испытаниям* подвергали трансплантаты сухожилия, дермы и гиалинового хряща. Выбор указанных тканей обусловлен необходимостью сохранения пластических свойств последних. Изучение прочностных характеристик данных трансплантатов проводили на универсальной машине для испытания прочностных свойств материалов модели 1185 Instron (Англия). Диапазон нагрузок от 0 до 100 Н (ньютон), скорость перемещения траверсы от 0,005 до 250 мм/мин. Перед исследованиями механических свойств трансплантатов дермы, из них изготавливали образцы, имеющие стандартную рабочую часть и усиленные концевые фрагменты (Заславский Б.В. 1986). Начальная длина и ширина рабочей части у разных образцов равна соответствующим параметрам штампа, а толщину в каждом случае определяли микрометром. Трансплантаты сухожилия расщепляли на ленты размером 5ммХ50 мм, толщину определяли микрометром. Из трансплантатов гиалинового хряща изготавливали образцы в форме куба размера-

ми 10ммХ10мм. Полученные образцы подвергали одноосному линейному растяжению (сжатию) с графической регистрацией диаграмм зависимости деформация-напряжение, по которым определяли основные механические параметры: предел прочности, модуль упругости, относительное удлинение. Прочностные свойства трансплантатов испытывали при постоянной скорости деформации – 1 мм/сек.

Для оценки эффективности радиационной стерилизации проводили бактериологические исследования изучаемых биоматериалов. Исследовали инициальную контаминацию как нативных, так и подвергнутых физической и химической обработке трансплантатов до и после радиационной стерилизации различными видами и дозами ионизирующего излучения.

Контроль стерильности проводили с использованием: 1) плотных питательных сред – агар Хоттингера, МПА; 2) жидких питательных сред: Тиогликолевая (для контроля стерильности), Сабуро (для выявления грибной флоры), Китта-Тароцци (для роста анаэробов).

Жизнеспособность бактерий определяли по критерию образования макроколоний на твердом питательном агаре. Количественный учет микроорганизмов проводили капельным методом. Обсемененность трансплантатов определяли также методом мембранной фильтрации. Посевным материалом служил раствор, полученный в процессе смыва с локутов трансплантатов. Расчет инициальной контаминации вели на 1 см<sup>2</sup> поверхности образца.

Контроль стерильности проводили в специальных условиях, предусмотренных приказом Минздрава СССР № 964/410 от 17.09.79г. (О проведении контроля стерильности радиационно-стерилизованной медицинской продукции).

Экспериментальные исследования по имплантации сухожильных трансплантатов с различной степенью сохранности волокнистого остова проводили на 56 крысах породы Вистар обоего пола массой от 0,18 до 0,2 кг и на 46 кроликах породы Шиншилла обоего пола массой от 1,5 до 2 кг. Исследования выполняли с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Под тиопенталовым наркозом (тиопентал натрия 30мг/кг + 5% кетамина гидрохлорид – 1мл – внутримышечно) животным производили надрез на коже бедра. Сухожильный трансплантат (0,5х0,5 см) помещали внутрь дефекта и фиксировали одним узловым швом к подлежащим мышцам. Наклады-

вали швы на рану. Через 7, 30, 90 и 120 суток после операции животных выводили из опыта передозировкой наркоза. Для крыс использовали ингаляционный эфирный наркоз. Для гистологического исследования забирали имплантированный трансплантат с окружающими тканями. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону. Микроскопические исследования проводили с использованием световых микроскопов JENAVAL (С. Zeiss, Германия) и MC -50 (MICROS, Австрия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе нами проведен сравнительный анализ структурных и прочностных изменений, происходящих в соединительнотканых биоматериалах при различных видах и дозах радиационного воздействия с учетом технологии их изготовления.

В качестве объекта исследования были выбраны аллогенные трансплантаты, различные по фиброархитектонике, прочностным свойствам и составу неколлагеновых компонентов, а также наиболее востребованные в клинической практике: сухожилия, дерма, фиброзная капсула почки, подкожная жировая клетчатка и хрящ. Указанный спектр исследуемых разновидностей соединительной ткани необходим для выявления общих закономерностей, характеризующих устойчивость биоматериалов к действию радиационной стерилизации.

На первом этапе исследований изучаемые соединительнотканые биоматериалы подвергались физической и химической обработке. Все известные методы физико-химической обработки и консервации направлены на снижение антигенных свойств биоматериалов, при сохранении их коллагенового каркаса. При оптимальном методе физико-химического воздействия, трансплантаты должны иметь свободную от клеток волокнистую структуру (Davies A.H., Parums D.V., 1992, Allaire E. 1994). Вполне понятно, что физическая и химическая обработка донорских тканей могут повлиять на структуру трансплантатов. Поэтому одной из задач нашего исследования являлось изучение структурных особенностей всех выше перечисленных соединительных тканей, как в нативном виде, так и после физической и химической обработки.

Проведенные нами исследования позволили сделать следующее заключение. Обработка химическими детергентами по технологии Аллоплант

максимально сохраняет структуру волокнистого остова исследуемых соединительнотканых биоматериалов, что подтверждают данные морфологических исследований. В то же время, процесс лиофилизации приводит, в большинстве случаев, к изменениям структуры биоматериалов в виде расщепления пучков коллагеновых волокон и увеличения межпучковых пространств. Модификация волокнистого остова исследуемых трансплантатов с формированием ячеистых структур наблюдается у трансплантатов сухожилия и фиброзной капсулы почки. В структуре трансплантатов подкожной жировой клетчатки, подвергнутых лиофилизации, происходит расщепление пучков коллагеновых волокон стромы. Сохранность структуры после воздействия физической обработки наблюдалась у трансплантатов дермы и гиалинового хряща.

Следующим технологическим этапом изготовления трансплантатов является процесс стерилизации. Для стерилизации соединительнотканых трансплантатов использовали радиационное воздействие потоком быстрых электронов и тормозным (гамма) излучением дозами 15, 25, 40 и 60 кГр.

Проведение серии экспериментов по изучению эффекта радиационного воздействия потока быстрых электронов и гамма-излучения на микроорганизмы демонстрирует высокую степень надежности данного способа стерилизации биологических материалов, предназначенных для трансплантации.

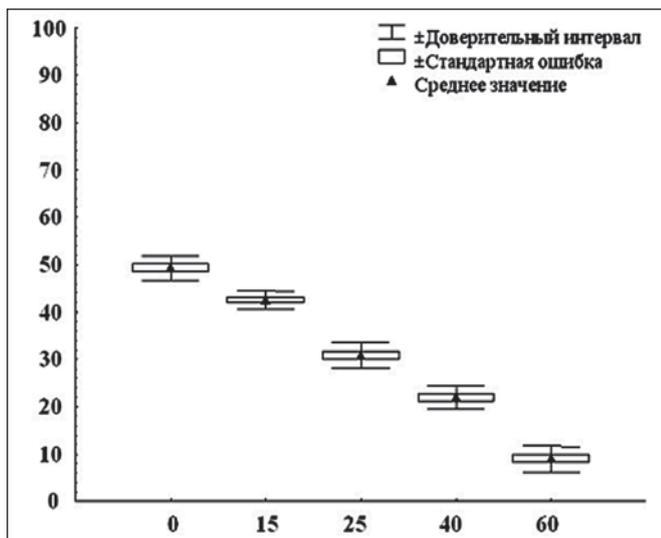
Результаты бактериологических исследований показали, что минимальная стерилизующая доза, необходимая для создания бактериальной безопасности соединительнотканых трансплантатов, составляет 15 кГр. Данная доза соответствует наименьшей дозе ионизирующего излучения для медицинских изделий, обеспечивающей достижение уровня стерильности  $10^{-6}$  (Туманян М.А., Каушанский Д.А., 1974).

Учитывая, что основу исследуемых соединительнотканых трансплантатов составляют коллагеновые волокна, которые при радиационной стерилизации дозами более 40 кГр подвергаются деструкции (Salehpour A., Butler D.L., Proch F.S., 1995), основное внимание в нашем исследовании было уделено фиброархитектонике биоматериалов, как критерию радиационной устойчивости.

На первом этапе данного исследования изучалась радиационная устойчивость трансплантатов сухожилия. Сравнительный морфологический анализ показал, что после стерилизации гамма-излучением, в структуре нативных, а также обрабо-

танных по технологии Аллоплант трансплантатов сухожилия происходят идентичные изменения. А именно, после воздействия дозой 15 кГр наблюдается фрагментация коллагеновых волокон, образующих рыхлую сеть эндо- и перитенония. Фрагменты оплетающей сети хаотично располагаются на поверхности пучков волокон и в межпучковых пространствах. В результате происходит продольное расщепление коллагеновых пучков на более тонкие. Толщина расщепленных пучков варьирует от 5 до 30 мкм. Однако структура самих волокон и их однонаправленность сохраняются. При увеличении стерилизующей дозы гамма-излучения от 25 до 60 кГр наблюдается деструкция нативных и химически обработанных трансплантатов сухожилия. Наблюдается гомогенизация ткани, поверхность коллагеновых волокон экранируется аморфным матриксом, вследствие чего последние приобретают аморфный вид. Поляризационно-оптический анализ демонстрирует значительное снижение оптической активности коллагеновых волокон. Цифровое значение оптической активности коллагеновых волокон нативных трансплантатов сухожилия уменьшается в 2,2 раза, химически обработанных трансплантатов сухожилия – в 6 раз по сравнению с контролем (необлученными образцами) (таб.1 и рис.1).

**Таблица 1.** Трансплантат сухожилия, обработанный по технологии Аллоплант. Радиационная стерилизация гамма-излучением. Относительная оптическая активность при интенсивности 128÷255, %.  
Соответствует рисунку 1.



**Рис.1.** Трансплантат сухожилия, обработанный по технологии Аллоплант. Радиационная стерилизация гамма-излучением. Ось абсцисс: относительная оптическая активность при интенсивности 128÷255, %; ось ординат: доза  $\gamma$ -облучения, кГр

	Кол-во измерений	Среднее значение	Доверительный интервал	Стандартная ошибка
Без облучения	10	49,26	2,63	0,83
15 кГр	10	42,54	1,90	0,60
25 кГр	10	30,80	2,65	0,84
40 кГр	10	22,00	2,41	0,76
60 кГр	10	8,98	2,71	0,86

При стерилизации трансплантатов потоком быстрых электронов морфологическая картина несколько меняется. Как у нативных трансплантатов сухожилия, так и у обработанных по технологии Аллоплант, выраженные морфологические изменения в виде деструкции оплетающей сети коллагеновых волокон и продольного расщепления пучков, отмечаются уже при дозе воздействия 15 кГр. Увеличение дозы поглощения приводит к расщеплению пучков волокон до фибриллярного состояния. Толщина расщепленных волокон неравномерна и варьирует от 3 до 20 мкм, размеры межпучковых пространств местами достигают 100 мкм. Среднее значение оптической активности коллагеновых волокон нативных трансплантатов сухожилия снижается в 2,2 раза, обработанных по технологии Аллоплант в 4 раза (по сравнению с контролем).

Как показали наши исследования, устойчивость к лучевому воздействию *лиофилизированных трансплантатов сухожилия* определяется видом радиационного воздействия. Процессы деструкции волокон эндо- и перитенония, с последующим продольным расщеплением пучков первого и второго порядка, отмечаются при дозе 15 кГр тормозного облучения. Увеличение стерилизующей дозы приводит к необратимым изменениям в структуре лиофилизированных трансплантатов. Коллагеновые волокна фрагментируются, образуя ячеистые сети, толщина пучков в которых не превышает 20 мкм, а межпучковые расстояния увеличиваются до 40 мкм.

При стерилизации лиофилизированных трансплантатов сухожилия потоком быстрых электронов видимые морфологические изменения в структуре последних отмечаются после увеличения дозы поглощения от 25 до 60 кГр. Волокна эндо- и перитенония, оплетающие коллагеновые пучки, полностью разрушаются. Пучки воло-

кон приобретают сетчатую структуру. Размеры между ячейками, образованными фрагментами коллагеновых волокон, достигают 130 мкм. Данные поляризационно-оптического анализа подтверждают деструкцию волокнистого остова лиофилизированных трансплантатов сухожилия. При максимальной дозе радиационного воздействия гамма-излучением и потоком быстрых электронов среднее значение показателя оптической активности уменьшается в 2 раза.

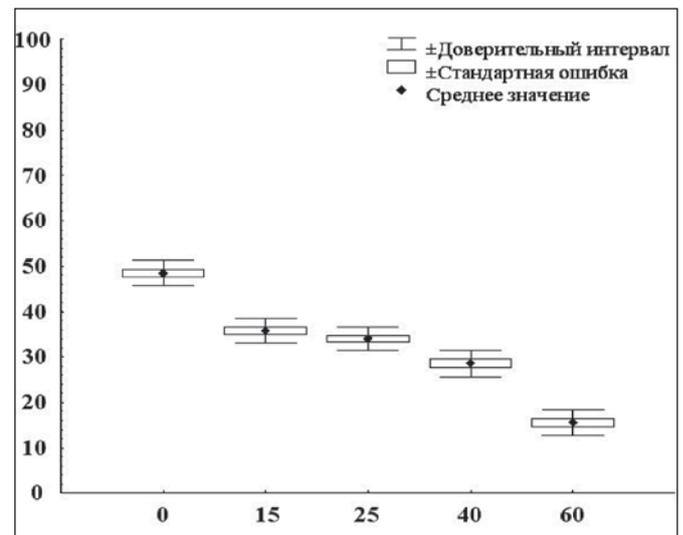
Результаты исследования структуры, *обработанных по технологии Аллоплант и лиофилизированных трансплантатов сухожилия*, подвергнутых радиационной стерилизации таковы. Воздействие, как гамма-излучением, так и потоком быстрых электронов, приводит к идентичным изменениям в структуре трансплантатов. Гомогенизация коллагеновых волокон, проявляющаяся ярко-желтым окрашиванием по Ван Гизону, наблюдается при стерилизации дозой 15 кГр. Увеличение дозы любого радиационного воздействия приводит к полной деструкции волокнистого остова данного трансплантата, что подтверждается данными поляризационно-оптического анализа. Среднее значение показателя оптической активности при максимальной дозе поглощения (60 кГр) снижается в 3 раза по сравнению с контролем (таб.2 и рис.2).

**Таблица 2.** Трансплантат сухожилия, обработанный по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированный. Радиационная стерилизация потоком быстрых электронов. Относительная оптическая активность при интенсивности  $128 \div 255$ , %. Соответствует рисунку 2.

	Кол-во измерений	Среднее значение	Доверительный интервал	Стандартная ошибка
Без облучения	10	48,44	2,80	0,89
15 кГр	10	35,75	2,77	0,88
25 кГр	10	33,98	2,57	0,81
40 кГр	10	28,57	2,94	0,93
60 кГр	10	15,55	2,86	0,91

Морфологические изменения в структуре трансплантатов сухожилия после радиационной стерилизации приводят к изменению их прочностных свойств. Так, у нативных и обработанных по технологии Аллоплант трансплантатов сухожилия, наблюдается снижение прочностных характеристик при максимальных дозах радиационного воздействия

(40 и 60 кГр). Среднее значение предела прочности и модуля упругости данных трансплантатов снижается в 1,5 раза при стерилизации гамма-излучением и в 2 раза – при стерилизации потоком быстрых электронов (по сравнению с необлученными образцами). Полученные нами результаты согласуются с данными S. Vogdansky и соавт. (2004), которые отмечают, что для стерилизации консервированных трансплантатов сухожилия могут использоваться дозы поглощения до 15 кГр, т.к. данная доза не изменяет их прочностных свойств. В. М. Fideler и соавт. (1995) также рекомендуют использовать для стерилизации сухожилий гамма-излучение дозами 15-20 кГр. Тенденция к снижению прочностных характеристик по мере увеличения стерилизующей дозы в наибольшей степени выражена у лиофилизированных трансплантатов сухожилий. Значимое уменьшение (приблизительно в 2 раза) средних значений предела прочности и модуля упругости



**Рис. 2.** Трансплантат сухожилия, обработанный по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированный. Радиационная стерилизация потоком быстрых электронов. Ось абсцисс: относительная оптическая активность при интенсивности  $128 \div 255$ , %; ось ординат: доза  $\dot{\epsilon}$ -облучения, кГр

наблюдается при воздействии дозой 15 кГр потоком быстрых электронов и дозой 25 кГр гамма-излучения. Снижение прочностных показателей лиофилизированных сухожилий после стерилизации гамма-излучением отмечали в своих работах G.Rauch и соавт. (1991).

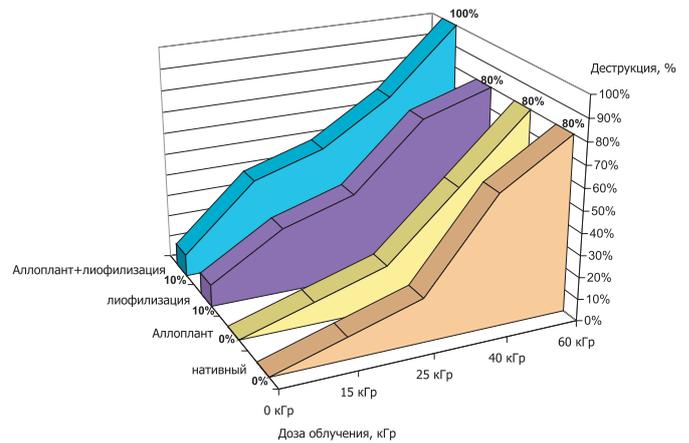
Таким образом, нативные и обработанные по технологии Аллоплант трансплантаты сухожилия, подвергаются выраженной деструкции, начиная с дозы 15 кГр воздействия потока быстрых электронов и 25 кГр – гамма-излучения. Устойчивость к лучевому воздействию лиофилизированных трансплантатов

сухожилий также определяется видом излучения. Что касается обработанного по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированного трансплантата сухожилия, то морфологические исследования показали, что данный трансплантат подвергается деградации при всех исследуемых видах и дозах радиационного воздействия. Полученные результаты свидетельствуют о достаточно низкой устойчивости фиброархитектоники сухожильных трансплантатов к радиационному воздействию и согласуются с данными Salehpour A., et.al. (1995); Shiiba V. et al., (1999). Выраженные изменения фиброархитектоники радиационно-стерилизованных трансплантатов сухожилия закономерно отражаются в снижении их прочностных характеристик.

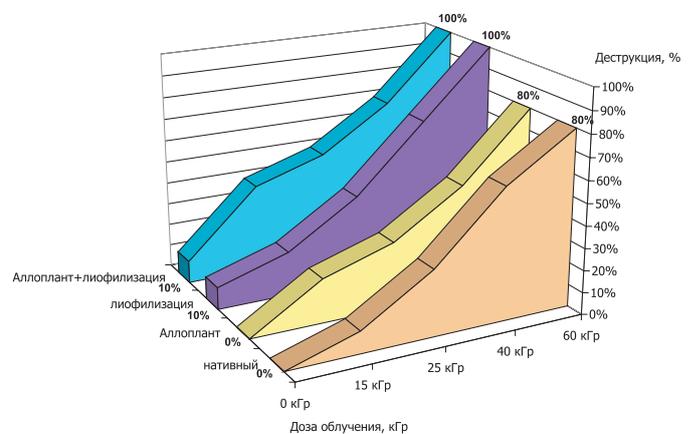
Анализ степени деструктивных изменений трансплантатов сухожилия, в зависимости от физико-химической обработки, вида и дозы радиационного воздействия, представлен на рисунках 3,4.

Изучение структурных изменений **трансплантатов дермы** показало, что для данной ткани характерна высокая радиационная устойчивость. Так, у *нативных трансплантатов дермы* изменения в структуре после стерилизации гамма-излучением во всех исследуемых дозах не наблюдались. Радиационное воздействие потоком быстрых электронов дозами 40 и 60 кГр приводит к незначительным изменениям фиброархитектоники трансплантатов, а именно к деструкции отдельных солитарных волокон. Структура пучков коллагеновых волокон остается сохранной. Подобная картина наблюдается и при радиационной стерилизации *трансплантатов дермы, обработанных по технологии Аллоплант*. Как при стерилизации гамма-излучением, так и при стерилизации потоком быстрых электронов, во всех изучаемых дозах и на всех проведенных нами уровнях исследования, структурных изменений не обнаружено.

В фиброархитектонике *лиофилизированных трансплантатов дермы* после радиационной стерилизации происходят следующие структурные изменения. При воздействии потоком быстрых электронов дозами от 15 до 40 кГр незначительные изменения в структуре лиофилизированных трансплантатов дермы проявляются небольшим увеличением межпучковых пространств. Увеличение стерилизующей дозы до 60 кГр приводит к дезорганизации фиброархитектоники трансплантатов дермы. Нарушается картина сложного переплетения пучков и волокон. Межпучковые пространства



**Рис.3.** Степень деструктивных изменений трансплантатов сухожилия, стерилизованных гамма-излучением



**Рис.4.** Степень деструктивных изменений трансплантатов сухожилия, стерилизованных потоком быстрых электронов

увеличиваются до 50 мкм, исчезают солитарные волокна. Однако структура самих коллагеновых волокон не изменяется, о чем свидетельствует сохранение тинкториальных свойств и оптической активности последних.

В процессе стерилизации *трансплантатов дермы, обработанных по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированных*, наблюдаются следующие изменения. Независимо от вида радиационного воздействия, выраженные изменения в структуре данного трансплантата отмечаются при дозах выше 40 кГр. При этом поверхность коллагеновых пучков теряет выраженный фибриллярный рельеф и приобретает аморфный вид, нарушается пространственная ориентация пучков. Уровень оптической активности остается достаточно высоким и свидетельствует о том, что, не смотря на процессы дезорганизации, начавшиеся в волокнистом остове трансплантатов дермы, структура самих коллагеновых волокон сохраняется (таб.3 и рис.5).

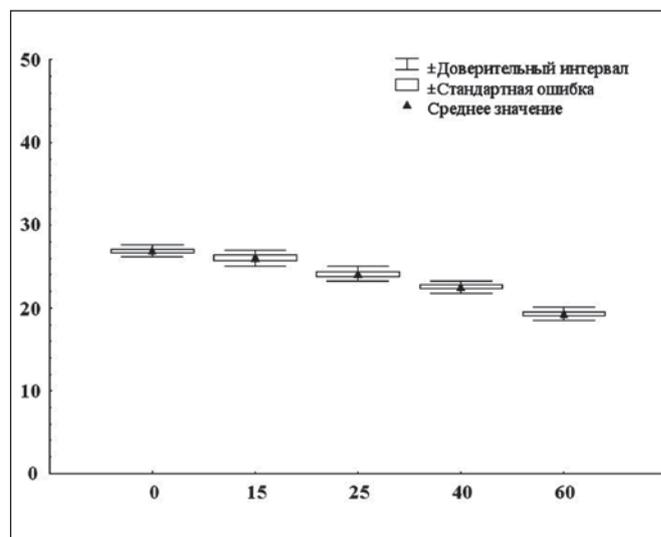
**Таблица 3.** Трансплантат дермы, обработанный по технологии Аллоплант и лиофилизированный. Радиационная стерилизация потоком быстрых электронов. Относительная оптическая активность при интенсивности  $95 \div 255$ , в %. Соответствует рисунку 5.

	Кол-во измерений	Среднее значение	Доверительный интервал	Стандартная ошибка
Без облучения	10	26,90	0,77	0,24
15 кГр	10	26,06	0,97	0,31
25 кГр	10	24,12	0,89	0,28
40 кГр	10	22,51	0,71	0,22
60 кГр	10	19,30	0,75	0,24

Результаты биомеханических испытаний трансплантатов нативной и обработанной по технологии Аллоплант дермы демонстрируют сохранение прочностных характеристик при всех исследуемых видах и дозах радиационного воздействия. В ходе механических испытаний лиофилизированных трансплантатов дермы, подвергнутых радиационной стерилизации, наблюдается тенденция к снижению прочностных характеристик по мере увеличения дозы воздействия. С увеличением дозы радиационной стерилизации потоком быстрых электронов предел прочности снижается в два раза – от  $11,5 \pm 0,6$  МПа (контроль) до  $5,5 \pm 0,3$  (стерилизация потоком быстрых электронов дозой 60 кГр). Изменения модуля упругости (Юнга) носят аналогичный характер. Если у контрольного образца лиофилизированного трансплантата дермы данный показатель равен  $22,5 \pm 0,3$  МПа, то при стерилизации потоком быстрых электронов дозой 60 кГр его значение уменьшается в 2,5 раза – до  $9,7 \pm 0,5$  МПа. Сравнение показателей относительного удлинения выявило сохранение данного параметра при всех исследуемых видах и дозах радиационного воздействия.

Снижение прочностных показателей наблюдаются и у радиационно-стерилизованных трансплантатов дермы, обработанных по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированных. Изменение параметров относительного удлинения носит незначительный характер, однако значения предела прочности и модуля упругости (Юнга) уменьшаются в 2 раза по сравнению с контролем.

Исследования фиброархитектоники и прочностных свойств трансплантатов дермы, подвергнутых физической и химической обработке и радиационной стерилизации, показали, что для данной ткани характерна высокая



**Рис. 5.** Трансплантат дермы, обработанный по технологии Аллоплант и лиофилизированный. Ось абсцисс: относительная оптическая активность при интенсивности  $95 \div 255$ , в %; ось ординат: доза  $\dot{\epsilon}$ -облучения, кГр.

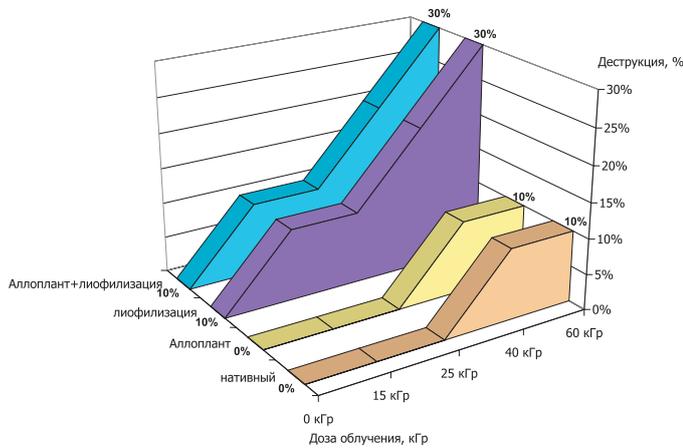
радиационная устойчивость. Выраженные деструктивные изменения, а также снижение биомеханических показателей наблюдаются в лиофилизированных трансплантатах дермы при дозах радиационного воздействия выше 40 кГр.

Анализ степени деструктивных изменений трансплантатов дермы, в зависимости от физико-химической обработки, вида и дозы радиационного воздействия представлен на рисунках 6,7.

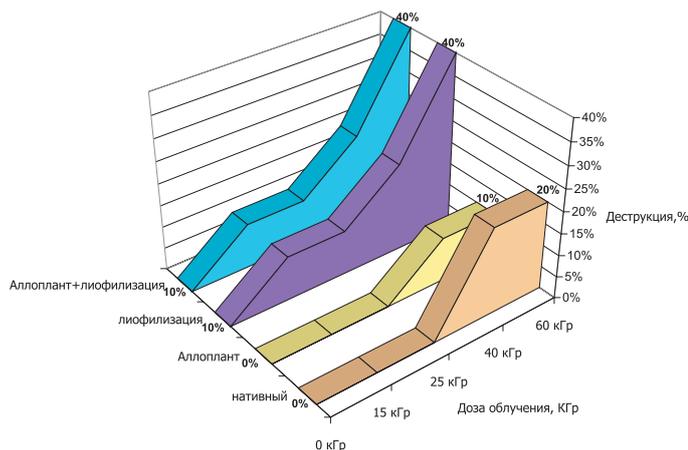
Исследовав фиброархитектонику **трансплантатов фиброзной капсулы почки** после радиационной стерилизации в различных режимах и дозах, мы получили следующие результаты. Структурные изменения *нативных трансплантатов фиброзной капсулы почки и трансплантатов, прошедших химическую обработку по технологии Аллоплант*, носят идентичный характер. При радиационной стерилизации гамма-излучением и потоком быстрых электронов дозами от 15 до 40 кГр, деструктивных изменений в названных трансплантатах не обнаружено. На всех уровнях морфологического исследования наблюдается характерная для внутреннего слоя фиброзной капсулы почки сеть густо переплетенных коллагеновых волокон и сохраненные, компактно расположенные, волокна наружного слоя трансплантата.

Увеличение стерилизующей дозы до 60 кГр приводит к выраженной гомогенизации коллагеновых волокон внутреннего слоя трансплантатов. Нарушается ход волокон в пучках, они теряют извилистость, практически исчезает войлочное строение, характерное для внутреннего

слоя фиброзной капсулы. В структуре наружного слоя данных трансплантатов видимых изменений не обнаруживается даже при ультраструктурном исследовании.



**Рис.6.** Степень деструктивных изменений трансплантатов дермы, стерилизованных гамма-излучением



**Рис.7.** Степень деструктивных изменений трансплантатов дермы стерилизованных потоком быстрых электронов

Как нами было отмечено ранее, внутренний слой лиофилизованных трансплантатов фиброзной капсулы почки имеет ярко выраженную ячеистую структуру. В процессе радиационной стерилизации любым видом ионизирующего излучения, по мере увеличения дозы поглощения усугубляются и структурные изменения в ткани. Если при воздействии дозами 15 и 25 кГр данные изменения представлены увеличением расстояний между разнонаправленными коллагеновыми волокнами, то увеличение стерилизующей дозы до 60 кГр приводит к практически полной гомогенизации коллагеновых волокон. Тонкое фибриллярно-волоконистое ячеистое строение, характерное для внутреннего слоя лиофили-

рованных трансплантатов фиброзной капсулы почки, исчезает полностью. Достаточно плотный наружный слой трансплантатов уплотняется настолько, что не удается визуализировать отдельные коллагеновые волокна, образуется картина сплошной гомогенной массы. В целом деструкция лиофилизованных трансплантатов фиброзной капсулы почки очевидна.

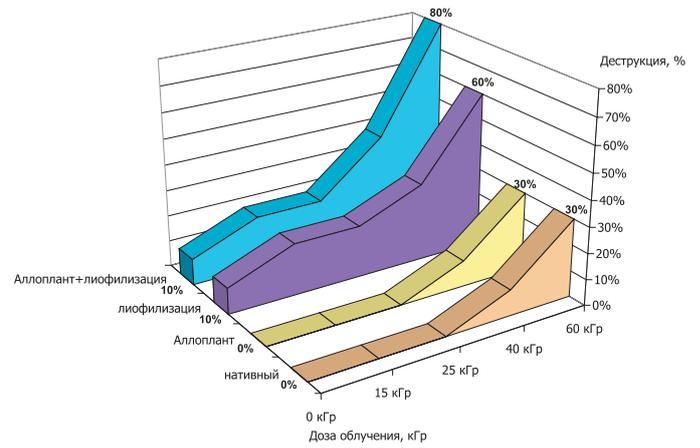
Трансплантаты фиброзной капсулы почки, обработанные по технологии Аллоплант, а затем лиофилизованные, сохраняют свою структуру при воздействии гамма-излучением дозами до 40 кГр. При стерилизации дозой 60 кГр наблюдается гомогенизация коллагеновых волокон внутреннего слоя, а также уплотнение и так интимно расположенных волокон наружного слоя трансплантата. Радиационная стерилизация потоком быстрых электронов приводит к деструктивным изменениям в трансплантатах, начиная с дозы воздействия 25 кГр. Ультраструктурный анализ выявляет расщепленные пучки коллагеновых волокон, формирующих мелкую сеть, в которой встречаются единичные волокна, неоднородные по толщине и имеющие аморфный вид. Максимальная деструкция трансплантатов фиброзной капсулы почки, обработанных по технологии Аллоплант, а затем лиофилизованных, происходит при воздействии потоком быстрых электронов дозой 60 кГр. Измененная структура ткани представляет собой тонковолокнистую равномерно-ячеистую сеть, образованную расщепленными коллагеновыми волокнами, утратившими характерный поверхностный рельеф. Рыхлая структура внутреннего слоя трансплантатов полностью исчезает, и ткань приобретает более уплощенный вид. Наружный слой также превращается в достаточно плотное образование, состоящее из гомогенизированных коллагеновых волокон.

Таким образом, нативные трансплантаты фиброзной капсулы почки проявляют достаточно высокую устойчивость к радиационному воздействию. Обработанные по технологии Аллоплант, трансплантаты фиброзной капсулы почки подвергаются деструкции при воздействии максимальными стерилизующими дозами (60 кГр). Что касается лиофилизованных трансплантатов, то они оказались наименее устойчивыми к любому радиационному воздействию. Степень деструктивных изменений трансплантатов фиброзной капсулы почки, в зависимости от физико-химической обработки, вида и дозы радиационного воздействия представлена на рисунках 8,9.

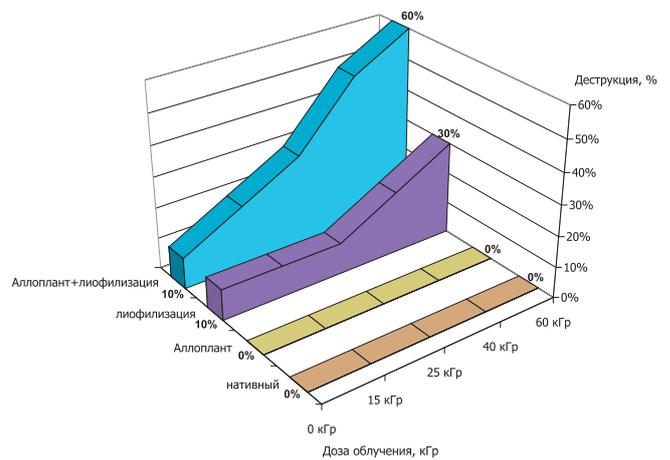
Изучив влияние радиационной стерилизации гамма-излучением и потоком быстрых электронов на **трансплантаты подкожной жировой клетчатки** во всех исследуемых дозах, мы получили следующие результаты. На всех уровнях проведенного исследования отмечается сохранение плотно упакованных пучков коллагеновых волокон стромы, как *нативных, так и обработанных по технологии Аллоплант трансплантатов*. Неизменными также остаются и оболочки жировых долек. Незначительные изменения наблюдаются в структуре эластической сети. При максимальных дозах радиационного воздействия (60 кГр) структура данной сети представлена более тонкими волокнами, что свидетельствует о продольной фрагментации последних.

В структуре *лиофилизированных трансплантатов подкожной жировой клетчатки* происходят более выраженные изменения после радиационной стерилизации. При воздействии гамма-излучением дозами 15 и 25 кГр наблюдается деструкция пучков коллагеновых волокон, входящих в состав стромы. Данные волокна расщепляются, увеличиваются расстояния между ними и, как следствие, теряется плотная упаковка волокон в пучках. Увеличение дозы воздействия гамма-излучения от 40 до 60 кГр приводит к усилению процессов деструкции коллагеновых волокон стромы, а также к деформации оболочек жировых ячеек. При стерилизации лиофилизированных трансплантатов подкожной жировой клетчатки потоком быстрых электронов выраженные структурные изменения также наблюдаются при малых дозах радиационного воздействия. Данные изменения представлены полной гомогенизацией коллагеновых волокон стромы и разрушением оболочек жировых долек. Сеть эластических волокон также претерпевает изменения – эластические волокна приобретают аморфный вид и располагаются на значительных расстояниях друг от друга.

Структурные изменения в трансплантатах подкожной жировой клетчатки, обработанных по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированных, носят несколько иной характер. Так, при стерилизации гамма-излучением, структурные изменения в данных трансплантатах наблюдаются при дозах воздействия выше 40 кГр. Нарушается ориентированное расположение пучков коллагеновых волокон стромы. Кроме того, сами волокна на одних участках стромы расщепляются на более тонкие, а на других участках стромы происходит их полная



**Рис.8.** Степень деструктивных изменений трансплантатов фиброзной капсулы почки, стерилизованных гамма-излучением



**Рис.9.** Степень деструктивных изменений трансплантатов фиброзной капсулы почки, стерилизованных потоком быстрых электронов

гомогенизация. Оболочки жировых долек приобретают аморфный вид и образуют практически однородную массу. Радиационная стерилизация потоком быстрых электронов трансплантатов подкожной жировой клетчатки, обработанных по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированных, имела следующие последствия. Полная деструкция коллагеновых волокон стромы, а также оболочек жировых долек наблюдается, начиная с дозы воздействия 25 кГр. По мере увеличения стерилизующей дозы усугубляются и деструктивные признаки в фиброархитектонике трансплантатов. Сеть эластических волокон приобретает деформирован-

ный аморфный вид и уже не оплетает коллагеновые волокна, а покрывает их.

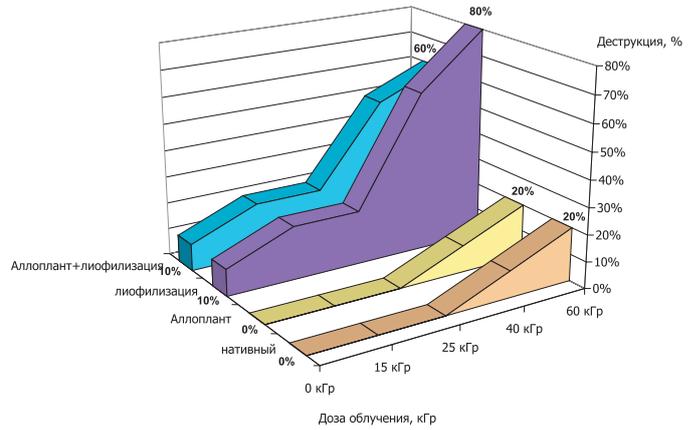
Проведенные исследования структуры радиационно-стерилизованных трансплантатов подкожной жировой клетчатки показали, что для нативных и обработанных по технологии Аллоплант трансплантатов характерна достаточно высокая степень радиационной устойчивости. Что же касается лиофилизированных трансплантатов, то изменения в их структуре выявляются даже при малых дозах радиационного воздействия. Анализ степени деструктивных изменений трансплантатов подкожной жировой клетчатки, в зависимости от физико-химической обработки, вида и дозы радиационного воздействия представлен на рисунках 10,11.

Высокая радиационная устойчивость наблюдается у консервированных **трансплантатов гиалинового хряща**, что отмечено и другими авторами (Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А.; 1996). Высокая стабильность структуры характерна как для *нативных*, так и для *обработанных по технологии Аллоплант хрящевых трансплантатов*. Наши исследования показали, что радиационная стерилизация потоком быстрых электронов и гамма-излучением не приводит к видимым изменениям фиброархитектоники данных трансплантатов. По совокупности полученных морфологических данных наблюдаются четко различающиеся территориальные и межтерриториальные участки матрикса, характерные для гиалинового хряща.

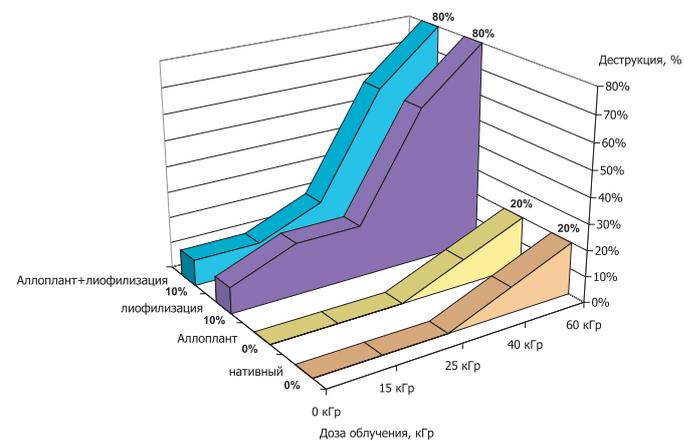
Определяется сохранение структуры коллагеновых волокон межтерриториального матрикса и оболочек перичеллюлярных капсул. Среднее значение оптической активности коллагеновых волокон также не претерпевает выраженных изменений (таб.4 и рис.12).

**Таблица 4.** Трансплантат гиалинового хряща, обработанный по технологии Аллоплант. Радиационная стерилизация гамма-излучением. Относительная оптическая активность при интенсивности  $100 \div 255$ , в %. Соответствует рисунку 12.

	Кол-во измерений	Среднее значение	Доверительный интервал	Стандартная ошибка
Без облучения	10	87,34	1,49	0,47
15 кГр	10	85,69	1,50	0,47
25 кГр	10	83,18	1,44	0,46
40 кГр	10	82,30	1,47	0,47
60 кГр	10	69,61	1,34	0,42

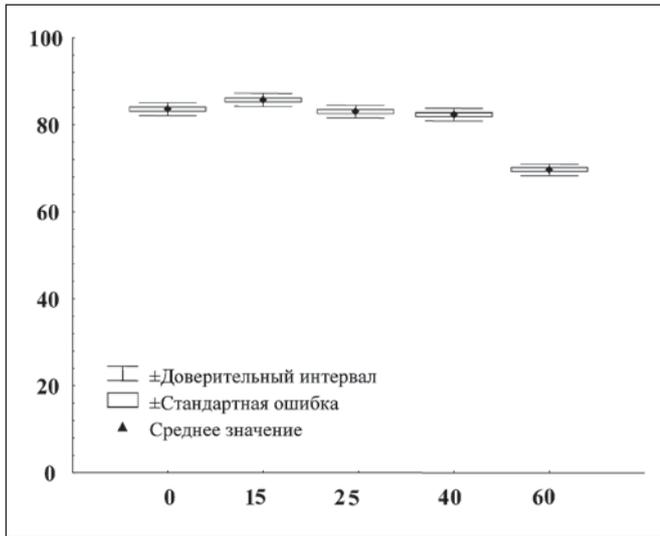


**Рис.10.** Степень деструктивных изменений трансплантатов подкожной жировой клетчатки, стерилизованных гамма-излучением

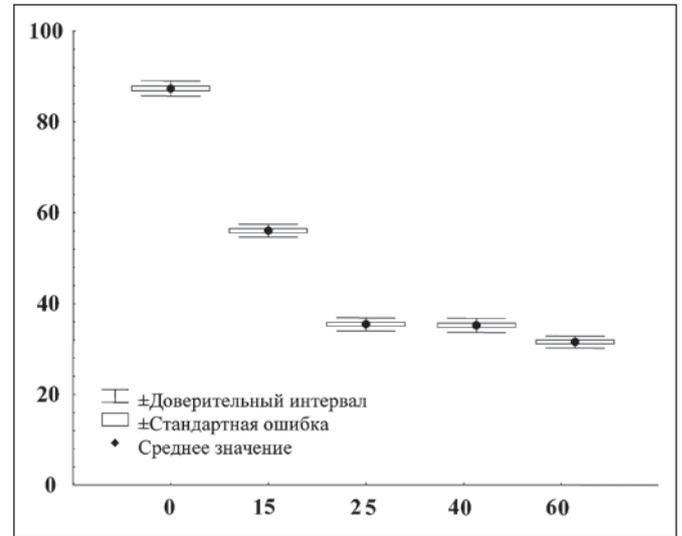


**Рис.11.** Степень деструктивных изменений трансплантатов подкожной жировой клетчатки, стерилизованных потоком быстрых электронов.

Что касается *лиофилизированных трансплантатов гиалинового хряща*, то в данном случае изменение архитектоники зависит от вида радиационного облучения. Если стерилизация гамма-излучением не изменяет структуры данных трансплантатов, то после воздействия потоком быстрых электронов в любой исследуемой дозе наблюдается иная картина. При ультраструктурном исследовании выявляется расщепление коллагеновых волокон межтерриториального матрикса. Расщепленные волокна формируют разнонаправленную тонковолокнистую сеть с включениями в виде лакун. Среднее значение показателя оптической активности при максимальной дозе радиационного воздействия (60 кГр) уменьшается в 2,5 раза по сравнению с контролем (таб.5 и рис.13).



**Рис.12.** Трансплантат гиалинового хряща, обработанный по технологии Аллоплант. Ось абсцисс: относительная оптическая активность при интенсивности 100÷255, в %; ось ординат: доза гамма-облучения, кГр



**Рис.13.** Лиофилизированный трансплантат гиалинового хряща. Ось абсцисс: относительная оптическая активность при интенсивности 100÷255, в %; ось ординат: доза е-облучения, кГр

Таблица 5. Лиофилизированный трансплантат гиалинового хряща. Радиационная стерилизация потоком быстрых электронов. Относительная оптическая активность при интенсивности 100÷255, в %. Соответствует рисунку 13.

	Кол-во измерений	Среднее значение	Доверительный интервал	Стандартная ошибка
Без облучения	10	87,34	1,66	0,52
15 кГр	10	56,03	1,44	0,45
25 кГр	10	35,44	1,42	0,45
40 кГр	10	35,38	1,55	0,49
60 кГр	10	31,95	1,33	0,42

Еще менее устойчивым к радиационному воздействию оказались трансплантаты гиалинового хряща, обработанные по технологии Аллоплант, а затем лиофилизированные. В данном случае при всех исследуемых дозах воздействия гамма-излучением наблюдается деструкция коллагеновых волокон как территориального, так и межтерриториального матриц. Структура коллагеновых волокон полностью нивелируется, и образуется равномерная редкая сеть, состоящая из разнонаправленных тонких волокон диаметром от 1 до 5 мкм. Расстояния между ячейками, образованными расщепленными коллагеновыми волокнами, достигают 5 мкм. При увеличении дозы воздействия гамма-излучением до 60 кГр расстояния между ячейками уменьшаются до 2 мкм. Нарушение фироархитектоники лио-

филизированного трансплантата хряща приводит к снижению показателя относительной оптической активности в 2 раза по сравнению с контролем (при дозе воздействия 60 кГр).

Изменения структуры обработанных по технологии Аллоплант и лиофилизированных хрящевых трансплантатов после стерилизации потоком быстрых электронов носят практически аналогичный характер. Расщепленные и дезорганизованные коллагеновые волокна также образуют сеть, но толщина расщепленных волокон в данной сети не превышает 2 мкм, а расстояния между ячейками значительно увеличиваются и достигают 15 мкм. Поляризационно-оптический анализ демонстрирует низкую оптическую анизотропию коллагеновых волокон, а среднее значение величины оптической активности уменьшается с 85,36 (контроль) до 33,92 (доза 60 кГр).

Прочностные свойства нативных и обработанных по технологии Аллоплант трансплантатов гиалинового хряща не претерпевают достоверных изменений при воздействии ионизирующих излучений. Испытания прочностных характеристик данных трансплантатов демонстрируют, что вследствие упругой деформации при сжатии относительное укорочение не изменяется, и колеблется в пределах от  $0,26 \pm 0,08$  (контроль) до  $0,24 \pm 0,08$  (доза 60 кГр). Среднее значение предела прочности трансплантатов гиалинового хряща также достоверно не изменяется после радиационной стерилизации во всех исследуемых видах и дозах. Сохранение меха-

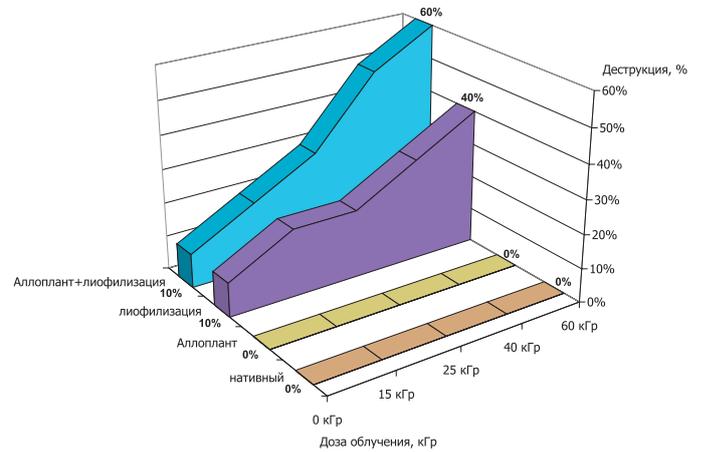
нических свойств консервированного реберного хряща при радиационной стерилизации отмечал G. Lefkovits (1990).

В то же время у лиофилизированных трансплантатов хряща наблюдается падение упруго-деформативных свойств и показателей предела прочности по мере увеличения доз радиационного воздействия. Максимальное снижение предела прочности наблюдается при стерилизации потоком быстрых электронов дозой 60 кГр. При данной дозе радиационного воздействия значение предела прочности уменьшается в 2,5 раза.

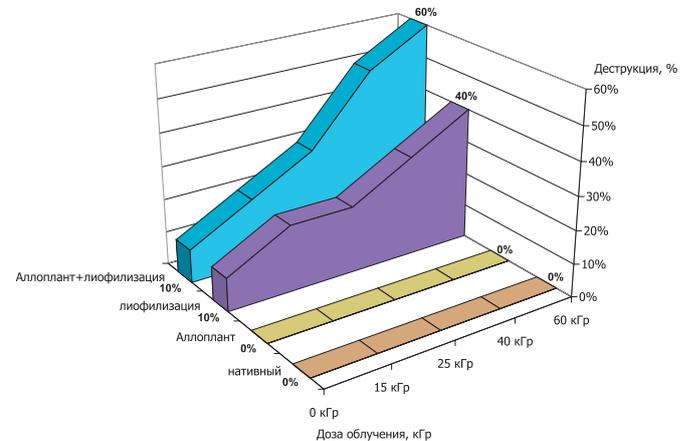
Результаты данной серии экспериментов показали, что трансплантаты гиалинового хряща проявляют достаточно высокую устойчивость к радиационному воздействию. Высокая стабильность морфологических структур характерна как для нативных, так и для обработанных по технологии Аллоплант трансплантатов хряща (рис. 14,15). Менее устойчивыми к радиационному излучению оказались лиофилизированные трансплантаты хряща: изменения их фиброархитектоники закономерно отражаются в снижении прочностных свойств.

Обобщая изложенное, можно заключить, что изученные анатомические структуры (сухожилия, дерма, фиброзная капсула почки, подкожная жировая клетчатка, гиалиновый хрящ), используемые в качестве трансплантатов, имеют различную степень радиационной устойчивости (радиорезистентности). В предыдущих исследованиях нами было показано, что изменения в структуре волокнистого остова соединительнотканых трансплантатов после радиационной стерилизации зависят от фиброархитектоники донорской ткани (Шангина О.Р., 1999). По особенностям фиброархитектоники биоматериалов нами было выделено три уровня структурной стабильности, соответствующие различной устойчивости тканей к радиационному воздействию. Анализ результатов данного исследования дает основание для коррекции, уточнения и расширения ранее сформированных представлений о факторах, обуславливающих радиоустойчивость биоматериалов.

Анализ изменений фиброархитектоники соединительнотканых трансплантатов показал, что наименее устойчивыми к радиационному воздействию являются коллагеновые волокна, связывающие пучки первого порядка. Деструктивные изменения на этом уровне заметны уже при минимальной дозе радиационного воздействия, что позволяет охарактеризовать коллагеновые волокна, соеди-



**Рис.14.** Степень деструктивных изменений трансплантатов гиалинового хряща, стерилизованных гамма-излучением



**Рис.15.** Степень деструктивных изменений трансплантатов гиалинового хряща, стерилизованных потоком быстрых электронов

няющие пучки первого порядка, как структурную единицу, соответствующую первому уровню структурной стабильности.

Пучки второго порядка также оплетаются подобной сетью коллагеновых волокон, которая поддерживает их структурную целостность и связывает между собой. Наличие пучков второго порядка, с оплетающей их рыхлой сетью коллагеновых волокон, рассматривается нами как второй уровень стабильности волокнистых структур. Уже при воздействии малых доз ионизирующего излучения наблюдается деструкция волокон эндо- и перитенония. Фактически теряется основной фактор стабильности для пучков первого и второго порядков, в результате чего происходит продольная фрагментация пучков на отдельные волокна и тонкие пучки. Фиброархитектоника изученных трансплантатов сухожилия соответствует второму уровню структурной стабильности.

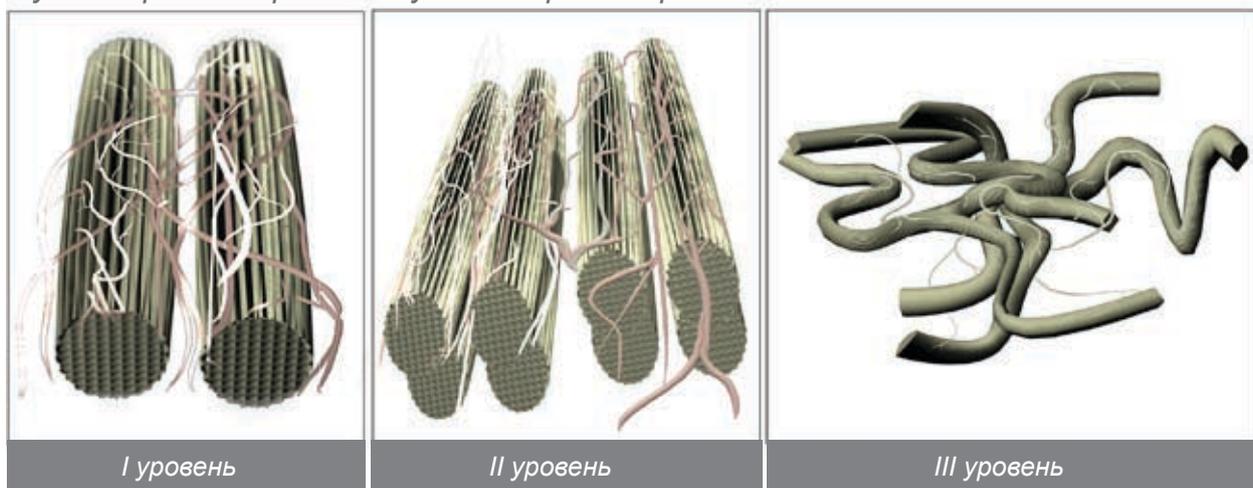
Третий уровень структурной стабильности характеризуется сложной пространственной архитектурой волокнистого остова, в котором пучки коллагеновых волокон имеют спиральный ход, переходя из одного слоя в другой. Подобная фиброархитектоника характерна для трансплантатов дермы, обладающих наибольшей радиорезистентностью из изученных нами волокнистых биоматериалов. Таким образом, третий уровень стабильности обуславливает более высокую устойчивость к радиационному воздействию соединительнотканых трансплантатов (рис. 16).

Для трансплантатов фиброзной капсулы почки характерна гетерогенность уровней структурной стабильности по слоям: в наружном плотном слое трансплантата представлена архитектура третьего уровня стабильности, а фиброархитектоника внутреннего слоя с тонкими изолированными пучками коллагеновых волокон соответствует первому уровню стабильности. Поэтому наружные слои трансплантатов фиброзной капсулы почки обладают максимальной радиационной устойчивостью, а внутренние – минимальной.

В трансплантатах гиалинового хряща структура межтерриториального матрикса, представленная однонаправленными тонкими коллагеновыми волокнами и фибриллами, соответствует первому уровню структурной стабильности и, казалось бы, должна подвергаться деструкции после радиационного воздействия. Однако изучение фиброархитектоники радиационно-стерилизованных трансплантатов гиалинового хряща показало высокую степень радиационной устойчивости данной ткани.

Особенности радиорезистентности трансплантатов гиалинового хряща, по-видимому, определяются гетерогенностью его структуры. В гиалиновом хряще преобладает коллаген II типа (Павлова В.Н., 1988). Волокна коллагена II типа в матриксе гиалинового хряща разнообразны по диаметру и, как правило, тоньше, чем волокна коллагена I типа в сухожилиях или дерме, и не образуют толстых пучков. Однако в них обнаружено высокое содержание гидроксипролина, что создает условия для возникновения характерных для коллагена II типа внутримолекулярных поперечных связей (Павлова В.Н., 1988). Еще одной отличительной особенностью гиалинового хряща является высокая концентрация сульфатированных гликозаминогликанов (Слуцкий Л.И., 1969). Таким образом, трансплантаты гиалинового хряща можно рассматривать как композитный биоматериал, значительную часть которого составляет внеклеточный аморфный матрикс. Известно, что сульфатированные агрегаты протеогликанов обладают высокой степенью гидратации (Слуцкий Л.И., 1969). При радиационной стерилизации, несмотря на происходящий радиолитиз воды, гидратированные биоматериалы проявляют повышенную устойчивость к лучевому воздействию (Dziedzic-Goclawska A., 2000). Кроме того, эндогенные сульфгидридные группы считаются естественными радиопротекторами, уровень содержания которых в значительной степени определяет радиостойкость тканей (Тарусов Б.Н., 1954; Бутомо Н.В. и соавт., 2004; Ярмоненко С.П., 1988, 2004). Естественные радиопротекторы способны переводить различные биохимические системы в состояние по-

*Пучки первого порядка    Пучки второго порядка*



**Рис.16.** Уровни структурной стабильности соединительнотканых биоматериалов

вышенной радиорезистентности (Романцев Е.Ф., 1971). Принимая во внимание вышеизложенное, можно заключить, что третий уровень стабильности хрящевых трансплантатов определяется неколлагеновыми компонентами (гликозаминогликанами), которые, как выяснилось, являются важным фактором радиостойчивости. С точки зрения выдвигаемой нами концепции, высокое содержание неколлагеновых компонентов также можно отнести к эндогенным факторам, обуславливающим высокую радиостойчивость соединительнотканых биоматериалов.

Необходимо отметить, что неколлагеновые компоненты в достаточной степени представлены и в трансплантатах дермы, которые обладают исключительно высокой радиорезистентностью. Подобную устойчивость можно объяснить не только сложной фиброархитектоникой дермы, но и тем, что значительную часть данной ткани составляет основное вещество, в которое погружены пучки коллагеновых волокон (Мулдашев Э.Р. и соавт., 1981). Известно, что главным компонентом основного вещества дермы является гиалуроновая кислота (Ноздрин В.И. и соавт., 2005). Радиопротекторные свойства гиалуроновой кислоты были отмечены в работах Тиунова Л.А. (1964).

Таким образом, в трансплантатах дермы радиостойчивость определяется двумя эндогенными факторами: сложной пространственной фиброархитектоникой и наличием гиалуроновой кислоты. Подобные же факторы, по-видимому, определяют и радиостойчивость наружных слоев трансплантатов фиброзной капсулы почки, в которой наряду со сложной фиброархитектоникой представлены также неколлагеновые компоненты: гиалуроновая кислота и хондроитин-сульфат (Слуцкий Л.И., 1969).

Особое место в ряду соединительнотканых трансплантатов занимают трансплантаты, изготовленные из подкожной жировой клетчатки. Составными элементами структуры данного трансплантата являются жировые дольки, окруженные оболочками, состоящими из тонких коллагеновых волокон, а также соединительнотканые тяжи, состоящие из плотно упакованных пучков третьего порядка. Однонаправленные коллагеновые волокна тяжелее в изолированном виде и окружающий их слабо развитый аморфный матрикс представляют собой достаточно радиочувствительную структуру. Но тот факт, что коллагеновые тяжи расположены между жировыми ячейками, содержащими нейтральные жиры, представленные в основном три-

глицеридами (Ноздрин В.И. и соавт., 2005), по всей вероятности, приводит к увеличению степени радиационной устойчивости данных трансплантатов. В работах М.А. Туманяна и Д.А. Каушанского (1974) отмечается, что высокое содержание нейтральных липидов в тканях повышает радиорезистентность последних. Противолучевые свойства триглицеридов отмечены также Л.А. Тиуновым и соавторами (1964). Таким образом, фактором, в значительной степени определяющим радиорезистентность трансплантатов подкожной жировой клетчатки, следует считать наличие жировых долек. К особенностям структуры данного биоматериала относится изолированное от пучков коллагеновых волокон расположение жировых долек. Поэтому наибольшие деструктивные изменения при лучевой стерилизации обнаруживаются в толстых коллагеновых пучках, формирующих каркас подкожной жировой клетчатки. В то же время тонкие коллагеновые волокна, разделяющие группы жировых клеток внутри долек, подвергаются деструкции только при максимальных дозах радиационного воздействия. Выявленная дифференциация в радиостойчивости трансплантатов подкожной жировой клетчатки, обусловленная гетерогенностью их структуры, еще раз подтверждает, что важное значение для радиорезистентности тканей имеет наличие неколлагенового компонента (в данном случае жировых долек).

Таким образом, резистентность соединительнотканых трансплантатов к радиационному воздействию зависит от особенности их фиброархитектоники и состава неколлагеновых компонентов, определяемых нами как эндогенные факторы радиационной устойчивости.

Но существует еще ряд экзогенных факторов, влияющих на радиационную устойчивость биоматериалов. И в первую очередь это химическая и физическая обработка трансплантатов, которая необходима для снижения иммуногенности донорских тканей (Мулдашев Э.Р., 1994; Tauro J.C. et. al., 1991; Allaire E. et. al., 1994; Goble E.M. et. al., 1999).

На сегодняшний день известно множество методов обработки и консервации тканей (Зайкова М.В., 1984; Парфентьева В.Ф., 1986; Подопригора Р.Н., 2004; Канюков В.Н. и соавт., 2005; Beigel A. et.al., 1991; Davies A.H., Parums D.V., 1992). Как правило, при консервации в жидких средах коллагеновый каркас трансплантатов сохраняется (Мулдашев Э.Р., 1994; Beigel A. et.al., 1991; Bujia J. et. al., 1993; Allaire E. et. al., 1994). Результаты нашего исследования по-

казали, что даже многоступенчатая химическая обработка по технологии Аллоплант не оказывает видимых на гистологическом уровне изменений в фиброархитектонике соединительнотканых биоматериалов.

Из физических методов обработки донорских тканей наиболее распространенным и широко используемым во многих тканевых банках является лиофилизация (Савельев В.И. и соавт., 2001; Лекишвили М.В., 2005; Dziedzic-Goclawska A. et al., 1991; Zasacki W., 1991; Verzen R., 1999). Результаты нашего исследования показали, что в лиофилизированных тканях происходят выраженные структурные изменения. Характерной особенностью архитектоники соединительнотканых трансплантатов, прошедших процесс лиофилизации, является образование некоей «губчатости» структуры. Лиофилизированные трансплантаты приобретают строение губки, ячейки которой образованы расщепленными коллагеновыми волокнами. Высушивание тканей в процессе лиофилизации приводит к дегидратации аморфного матрикса, окружающего коллагеновые волокна. В результате этого, в зависимости от степени начальной гидратированности аморфного матрикса, происходят те или иные структурные преобразования ткани. Изменения в структуре лиофилизированных трансплантатов можно рассматривать как деструкцию волокнистого остова, а можно взглянуть на данные структурные изменения с другой стороны. Модифицированная структура лиофилизированных соединительнотканых трансплантатов может использоваться при заполнении объемных дефектов различных тканей (Сироткина И.А., 2005), а также для восстановления тканей с дренажной функцией (Мулдашев Э.Р. и соавт., 2005). Существенным ограничением в применении лиофилизированных трансплантатов является неэффективность их при использовании для укрепляющих операций, где главную роль играют физико-механические свойства биоматериала.

Как показали наши исследования, радиационная устойчивость соединительнотканых трансплантатов, прошедших процесс лиофилизации, значительно снижается по сравнению с трансплантатами, консервированными в жидких средах. Надо полагать, что процесс деструкции коллагеновых волокон в лиофилизированных биоматериалах происходит в результате прямого эффекта ионизирующего излучения, тогда как консервированные в жидких средах трансплантаты подвергаются косвенному эффекту облучения. Косвенный эффект

радиации приводит к повреждению биологических структур в результате их химического взаимодействия с продуктами радиолиза воды, незначительное количество которой присутствует в жидких консервирующих средах. Лиофилизированные ткани подвергаются радиационной стерилизации в сухом виде и непосредственно поглощают энергию излучения. На значительную роль прямого эффекта радиации для слабогидратированных структур указывали Б.Н.Тарусов (1954), Н.В. Бутомо и соавт. (2004). Результаты нашего исследования совпадают и с данными А. Dziedzic-Goclawska (2000), которая отмечает, что, несмотря на радиолиз воды происходящий при лучевом воздействии, гидратированные биоматериалы проявляют повышенную радиационную устойчивость. Именно поэтому указанный автор рекомендует сохранять при лиофилизации часть связанной воды при подготовке биоматериала к стерилизации. Выраженную деструкцию лиофилизированных тканей при радиационной стерилизации, связанную с прямым эффектом радиации, отмечает и А. Kaminski с соавторами (2002).

Следовательно, такие экзогенные факторы, как химическая и физическая обработка донорских тканей, оказывают различное влияние на фиброархитектонику биоматериалов. Химическая обработка существенно не изменяет фиброархитектонику и радиорезистентность трансплантатов, однако физическая обработка (лиофилизация) приводит к значительной модификации фиброархитектоники и, как следствие, – к снижению радиационной устойчивости тканей.

К экзогенным факторам резистентности биоматериалов следует отнести виды и дозы радиационного воздействия. Известно, что тормозное (гамма) излучение и излучение потоком быстрых электронов имеют различную физическую природу (Тимофеев-Ресовский Н.В. с соавт., 1981). В ряде исследований (Тарусов Б.Н., 1954; Тимофеев-Ресовский Н.В. с соавт., 1981; Бутомо Н.В. с соавт., 2004; Ярмоненко С.П., 1988, 2004) установлено, что биологический эффект любого радиационного воздействия напрямую связан с процессами ионизации, происходящими в тканях. Различная биологическая эффективность ионизирующих излучений обусловлена различной плотностью ионизации, т.е. числом образующихся ионов. Поскольку плотность ионизации, создаваемая потоком быстрых электронов, значительно больше, чем у гамма-лучей, то и химические изменения здесь более значительны, и на одну пару ионов приходится гораздо больше разрывов хими-

ческих связей. Пролет электронов в ткани невелик, поэтому проникающая способность потока быстрых электронов очень низкая, происходит почти полное поглощение электронов при прохождении их через ткань. Гамма-излучение обладает очень высокой проникающей способностью. Не обладая зарядом, оно беспрепятственно проникает в глубь ткани. Необходимое время для получения заданной дозы гамма-излучения занимает от 1 до 5 часов. Максимальное время набора дозы потока быстрых электронов составляет 30 секунд. Таким образом, наиболее важными различиями между данными видами ионизирующего излучения являются, во-первых, способность ионизирующей радиации проникать внутрь ткани; во-вторых, разное время, необходимое для получения нужной дозы поглощения (Smestad T.I. et al., 1989; Stachowicz W., 1999; Lancker M. et al., 2000; Tacker M., et al. 2002).

Наши исследования показали, что наиболее выраженные изменения в структуре соединительнотканых биоматериалов наблюдаются при стерилизации потоком быстрых электронов. Поэтому облучение потоком быстрых электронов мы рекомендуем использовать при стерилизации биоматериалов с третьим, наиболее высоким уровнем структурной стабильности, и имеющих определенную геометрическую форму и небольшой объем.

На основании изложенного можно заключить, что радиоустойчивость биоматериалов определяется совокупностью эндогенных и экзогенных факторов. Эндогенные факторы являются своеобразной константой, отражающей исходную структуру донорской ткани, а экзогенными факторами можно варьировать в зависимости от целей практического использования биоматериалов. Отсюда следует, что, манипулируя эндогенными факторами, т.е. подбирая ткани с различным уровнем структурной стабильности, и экзогенными – за счет выбора вида и дозы радиационного воздействия, можно разработать технологические схемы селективной радиационной стерилизации биоматериалов.

Результаты проведенного экспериментального исследования позволили оценить значение селективной радиационной стерилизации биоматериалов для реализации их биологических свойств после имплантации. В качестве имплантируемого биоматериала использовали трансплантаты сухожилия, как материал с низким уровнем структурной стабильности, деструктивные изменения в котором проявляются даже при небольших вариациях доз радиационного воздействия. С дру-

гой стороны, структура трансплантатов сухожилия, вследствие своей простоты, позволяет объективно оценить различия в процессе резорбции – замещения после имплантации.

В первой серии экспериментов имплантировали трансплантаты с сохраненной фиброархитектоникой, т.е. трансплантаты сухожилия, обработанные по технологии Аллоплант и стерилизованные гамма-излучением дозой 15 кГр. Во второй серии имплантировали трансплантаты с выраженной деструкцией волокнистого остова – нативные сухожилия, стерилизованные потоком быстрых электронов дозой 25 кГр. И в третьей – трансплантаты с модифицированной структурой, т.е. обработанные по технологии Аллоплант и лиофилизированные, стерилизованные гамма-излучением дозой 15 кГр.

У трансплантатов сухожилий, имеющих сохраненную структуру, процесс замещения протекает равномерно от периферии к центру, образуя через 120 суток с момента операции регенерат, повторяющий архитектуру имплантируемого биоматериала, но отличающийся более рыхлым расположением волокнистых пучков.

Трансплантация сухожилий с признаками деструктивных изменений приводит к быстрому и сплошному замещению, при котором исключается роль формообразующего фактора волокнистого остова трансплантата. Происходит быстрый лизис пересаженного трансплантата. Сформировавшийся на 90 сутки регенерат больше напоминает рубцовую ткань с неупорядоченной архитектурой коллагеновых волокон.

Пересадка лиофилизированного трансплантата сухожилия, имеющего модифицированную структуру, приводит к формированию регенерата, представленного пучками разнонаправленных волокон, характерных для плотной неоформленной волокнистой соединительной ткани. Срок формирования регенерата – 120 суток.

Известно, что скорость и характер замещения трансплантируемого материала в значительной степени зависят от его фиброархитектоники (Мулдашев Э.Р., 1994; Нигматуллин Р.Т., 1996; Муслимов С.А., 2000). Из результатов проведенных экспериментов видно, что различия в степени сохранности волокнистого остова биоматериала после стерилизации определяют как сроки его лизиса после имплантации, так и характер замещения новообразованной тканью.

Однако, опираясь только на экспериментальный материал, невозможно получить полное представ-

ление об истинной ценности того или иного способа консервации и стерилизации применяемых трансплантатов (Савельев В.И., 1987). Трансплантаты, при изготовлении которых используется селективная радиационная стерилизация, получили широкое и успешное применение в различных областях восстановительной хирургии (офтальмохирургия, стоматология, челюстно-лицевая хирургия, травматология, нейрохирургия, урология, кардиохирургия, гинекология, абдоминальная хирургия и т.д.). На сегодняшний день серийно выпускается 83 вида трансплантатов, которыми обеспечиваются потребности 378 клиник России и стран СНГ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Радиорезистентность соединительнотканых биоматериалов определяется эндогенными и экзогенными факторами. Эндогенными факторами являются особенности фиброархитектоники и состав неколлагеновых компонентов тканей, а экзогенными – их химическая и физическая обработка, вид и доза радиационного воздействия. Выбор вида и дозы ионизирующего излучения с учетом особенностей фиброархитектоники и гистохимического состава трансплантатов обеспечивает их стерильность при сохранении биопластических свойств.

По особенностям фиброархитектоники биоматериалов различаются три уровня структурной стабильности тканей, коррелирующие с радиостойчивостью. Наименее устойчивы к радиационной стерилизации коллагеновые волокна, образующие сеть вокруг пучков первого и второго порядков, определяются как первый и второй уровни стабильности. Наиболее прочный третий уровень стабильности представлен сложной пространственной организацией пучков коллагеновых волокон.

Фактором, влияющим на радиостойчивость биоматериалов, является состав неколлагеновых компонентов соединительной ткани. Высокое содержание в тканях таких неколлагеновых компонентов, как сульфатированные гликозаминогликаны и триглицериды жирных кислот, обуславливает их радиорезистентность.

Химическая обработка тканей не приводит к нарушению фиброархитектоники и, соответственно, не снижает радиостойчивость соединительнот-

каных биоматериалов. Физическая обработка (лиофилизация) тканей приводит к существенному снижению радиостойчивости за счет фрагментации пучков коллагеновых волокон биоматериалов.

Изменения прочностных и деформативных свойств биоматериалов при радиационной стерилизации связаны с нарушениями их фиброархитектоники: выраженные деструктивные изменения радиационно-стерилизованных трансплантатов сухожилия проявляются в уменьшении их биомеханических показателей; сохранение структуры трансплантатов дермы и гиалинового хряща при радиационном воздействии обеспечивает сохранение их прочностных характеристик при различных видах и дозах радиационного воздействия. Радиационная стерилизация лиофилизированных соединительнотканых трансплантатов приводит к снижению предела прочности и модуля упругости, при сохранении деформативных свойств.

Изменения фиброархитектоники биоматериалов и их пластических свойств находятся в прямой зависимости от дозы ионизирующего излучения. Стерилизация потоком быстрых электронов оказывает более выраженное деструктивное воздействие, чем гамма-излучение.

Сроки и характер замещения соединительнотканых биоматериалов, а также структура регенерата определяются степенью сохранности волокнистого остова трансплантата после радиационной стерилизации. При пересадке биоматериала с сохраненной фиброархитектоникой происходит его постепенное замещение адекватным регенератом. Деструкция волокнистого остова радиационно-стерилизованного трансплантата приводит к быстрой его резорбции с формированием рубца.

Радиационное воздействие потоком быстрых электронов и гамма-излучением дозами 15-25 кГр является эффективным для достижения стерильности соединительнотканых биоматериалов. Разработанная технология селективной радиационной стерилизации биоматериалов позволяет сохранять их биологические и механические свойства, и может быть рекомендована для использования в практической деятельности тканевых банков. Для стерилизации трансплантатов сухожилия нами предложено использовать гамма-излучение дозой, не превышающей 15 кГр. Стерилизация потоком быстрых электронов в любых дозах, а также более высокие дозы гамма-излучения, приводят к нарушению фиброархитектоники и прочностных свойств данных трансплантатов.

Время набора максимальной стерилизующей дозы потока быстрых электронов составляет 30 секунд, а гамма-излучения – 5 часов. Поэтому с практической точки зрения, облучение потоком быстрых электронов рекомендуется использовать при стерилизации биоматериалов, обладающих высокой радиационной устойчивостью и имеющих определенную геометрическую форму и небольшой объем.

Концепция радиационной устойчивости соединительнотканых биоматериалов, учитывающая особенности их волокнистого остова и состав неколлагеновых компонентов, рекомендуется в ка-

честве теоретической основы при обосновании методов радиационной стерилизации вновь разрабатываемых трансплантатов. Совокупность морфологических методов исследования, включающих количественный поляризационно-оптический анализ, сканирующую электронную микроскопию и модифицированный метод осаждения нитрата серебра на поверхности биоматериала, может использоваться для комплексной оценки сохранности фиброархитектоники соединительнотканых биоматериалов на этапах их физико-химической обработки и радиационной стерилизации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Шангина О.Р. Структура соединительнотканых трансплантатов при различных видах радиационной стерилизации // Материалы VI научно-практической конференции Екатеринбургского Центра МНТК «Микрохирургия глаза». - Екатеринбург, 1998. – С.141-142.
2. Сельский Н.Е., Мухамадиев Д.М., Шангина О.Р., Шумкин А.М. Костная регенерация с применением барьера из аллодермальной ткани // Актуальные проблемы хирургии и морфологии. - Уфа, 1998. - С.159-161.
3. Нигматуллин Р.Т., Мулдашев Э.Р., Булатов Р.Т., Чернов Н.В., Шангина О.Р., Хасанов Р.А. Экспериментально-морфологическое исследование гомогенизированных аллотрансплантатов // Новые технологии микрохирургии глаза. - Оренбург, 1998. – С.64-66.
4. Мустафин А.Х., Хасанов Р.А., Шангина О.Р. Способ получения материала для укрытия раневой поверхности печени. Патент РФ на изобретение № 2139735 от 20.10.1999.
5. Шангина О.Р. Экспериментальное исследование трансплантата твердой мозговой оболочки // Актуальные проблемы клинической офтальмологии. - Челябинск, 1999. – С.220-222.
6. Шангина О.Р. Биомеханические свойства трансплантатов твердой мозговой оболочки при различных способах радиационной стерилизации // Макро- и микроморфология (межвузовский сборник). - Саратов, 1999. – С. 76-78.
7. Родионов О.В., Галимова Л.Ф., Шангина О.Р. Хирургическое лечение ятрогенной субатрофии глазного яблока у больных с сахарным диабетом // Материалы научно-практической конференции офтальмологов, посвященной 10-летию Оренбургского филиала МНТК «Микрохирургия глаза». - Оренбург, 1999. – С.33-34.
8. Нигматуллин Р.Т., Шангина О.Р. Устойчивость волокнистых соединительнотканых биоматериалов к воздействию радиационного излучения // Труды научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий ВИЛАР. - Москва, 1999. – С.142-147.
9. Шангина О.Р., Нигматуллин Р.Т., Саттарова Л.С. Радиационная устойчивость структур опорного аппарата человека // Морфология. Научно-теоретический медицинский журнал. - Санкт-Петербург, 2000. Т.117, № 3. – С. 134-135.
10. Шангина О.Р. Радиационная стерилизация соединительнотканых биоматериалов. // Биоимплантология на пороге XXI века. - Москва, 2001. – С. –30-31.
11. Сироткина И.А., Нигматуллин Р.Т., Шангина О.Р., Марычева Н.М., Бабайова О.М., Малышева С.Н., Лунина С.Н.. Косметическая реабилитация пациентов после удаления глазного яблока. // Материалы IX научно-практической конференции Екатеринбургского МНТК «Микрохирургия глаза». - Екатеринбург, 2001. С.191-193.
12. Шангина О.Р., Нигматуллин Р.Т.. Некоторые аспекты радиационной стерилизации трансплантатов. // Мате-

- риалы XII научно-практической конференции «Новые технологии в микрохирургии глаза». - Оренбург, 2001. С-209-211.
13. Шангина О.Р., Хасанов Р.А.. Устройство для лазерной резки трансплантатов из биологических тканей. Свидетельство на полезную модель № 23402. Зарегистрировано в Гос. Реестре полезных моделей РФ 11 января 2002 года.
  14. Шангина О.Р. Радиационная устойчивость биологических структур// Морфология. Научно-теоретический медицинский журнал. - Санкт-Петербург. 2002. Т.12 № 1, № 2-3. – С.176-177.
  15. O.R.Shangina. The biomaterials structure safety depending upon the kind of the conservation and sterilization. Past, Present and Future of Tissue Banking. Bratislava, 2002. P.93.
  16. Тарасов Ю.В., Хасанов Р.А., Шангина О.Р. Способ получения биопротеза для артериальной реконструкции. Патент РФ на изобретение №2189142 от 20.09.2002г.
  17. Мулдашев Э.Р., Муслимов С.А., Галимова В.У., Нигматуллин Р.Т., Шангина О.Р., Мусина Л.А. и др. Биоматериалы Аллоплант для регенеративной хирургии. Патент РФ на изобретение № 2189257 от 20.09.2002г.
  18. Шангина О.Р. Радиационная устойчивость волокнистых соединительнотканых биоматериалов // Регенеративная хирургия. www.reg-surgeru.ru. – 8 с.
  19. Сурков В.А., Плечев В.В., Шангина О.Р., Хасанов Р.А. Способ профилактики тромбэндокардита при протезировании клапанов сердца. Патент РФ на изобретение № 2213525 от 10.10.2003г.
  20. О.Р. Шангина, Р.А.Хасанов, А.Р.Мухаметов, Р.З.Султанов. Биомеханические свойства ксеносухожильных нитей // Материалы Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан «Медицинская наука – 2003». - Уфа-2003.-С 107-108.
  21. Шангина О.Р. Сохранность структуры биоматериалов в зависимости от вида консервации и стерилизации // Морфология. Научно-теоретический медицинский журнал. Санкт-Петербург. - №5, том 124, 2003г.-С.82.
  22. Shangina O.R., Khasanov R.A. Alloplant – biomaterials production process from connective tissues. 12th international congress of the European association of tissue banking. Brugge, Belgium, 2003. - P.75.
  23. Биоматериалы Аллоплант для регенеративной хирургии / Методические рекомендации. - Москва-Уфа, 2004. – 40 с.
  24. Шангина О.Р., Нигматуллин Р.Т. Морфологические и биологические критерии радиационной устойчивости аллопластических трансплантатов.// Морфология. Научно-теоретический медицинский журнал. Санкт-Петербург. - №4, том 126, 2004г. – С-138.
  25. Нигматуллин Р.Т., Шангина О.Р. Радиационная чувствительность аллопластических биоматериалов // Материалы II Всероссийского симпозиума с международным участием «Клинические и фундаментальные аспекты клеточных тканевых биотехнологий» - Самара, 28-30 июня 2004г. - С.42-43.
  26. Shangina O.R. Radiation sensitivity of allostatic biomaterials. 16th International Congress of the IFAA. Kyoto, Japan, 22-27 august, 2004.- P.231
  27. Shangina O.R., Nigmatullin R.T., Musina L.A. The sterilization radiation effect upon the biological properties of the biomaterials. 13th International Congress of European association of tissues banking. Prague, Czech Republic, 13-16 october, 2004.P-141.
  28. Muldashev E.R., Muslimov S.A., Musina L.A., Nigmatullin R.T., Lebedeva A.I., Shangina O.R., Khasanov R.A. The role of macrophages in the tissues regeneration stimulated by the biomaterials. Cell and Tissue Banking. Volume 6, Number 2. June 2005.P 99-107.
  29. Нигматуллин Р.Т., Шангина О.Р., Гафаров В.Г., Мухаметов А.Р. Восстановление структуры сухожилий с применением биоматериалов // Вестник Оренбургского Государственного Университета - Оренбург, сентябрь 2005 г.- С. 148-151.
  30. Мустафин М.М., Хасанов Р.А., Шангина О.Р. Способ устранения дефектов радужной оболочки глаза. Патент РФ на изобретение № 2254842 от 27 июня 2005 г.
  31. Нигматуллин Р.Т., Гафаров В.Г., Галимова В.У., Шангина О.Р., Мухаметов А.Р. Тендопластика с использованием аллогенных биоматериалов. Краткий очерк.Уфа-2005. - 52с.
  32. Лапчик Д.Р., Шангина О.Р. Применение средств мультиплексной голографии в офтальмологии. Материалы III Международной технической конференции «Оптические технологии и телекоммуникации». Уфа, ноябрь 2005. – С. 276-277.
  33. Shangina O.R., Nigmatullin R.T., Khasanov R.A. Factors, which determine sensitivity of the biomaterials to radiation sterilization. 14th International Congress of European Association of Tissues Banking. Florence, Italy, 08-11 december, 2005. – P. 35.
  34. Д.Р. Лапчик, О.Р. Шангина, И.В. Девяткин, Н.В. Завьялов, В.Т. Пунин, Н.П. Ситников, В.П. Таранасов, А.В. Тельнов, И.В. Шориков. Малогабаритный линейный ускоритель электронов для стерилизации изделий медицинского назначения // Материалы научной конференции «Харитоновские научные чтения». - Саров, 21-24 марта 2006г. – С.31-33.
  35. Шангина О.Р., Нигматуллин Р.Т. Влияние радиационной стерилизации на структуру и свойства биоматериалов // Морфология. Научно-теоретический медицинский журнал. Санкт-Петербург - № 3, том 129, 2006г. – С.44-48
  36. Шангина О.Р. Факторы радиорезистентности соединительнотканых биоматериалов// Технологии живых систем. Том 3, № 2, 2006 г. - С.58-63.
  37. Шангина О.Р., Мусина Л.А. Экспериментальная передача радиационно-стерилизованных биоматериалов // Труды научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий ВИЛАР. – Выпуск 24, Москва, 23 марта 2006. – С.111-115
  38. Шангина О.Р., Минигазимов Р.С. Применение метода импрегнации нитратом серебра для оценки структурных изменений радиационно-стерилизованных биомате-

- риалов // Морфологические ведомости. Международный морфологический журнал. Москва - Берлин - № 1-2, 2006 г. – С.127-130.
39. Нигматуллин Р.Т., Шангина О.Р., Хасанов Р.А. Инновационные технологии в деятельности многопрофильного тканевого банка // Морфологические ведомости. Международный морфологический журнал. Москва - Берлин - № 1-2, приложение № 1. – 2006. С. 213-215.
40. Шангина О.Р. Морфологические основы лучевой стерилизации соединительнотканых биоматериалов // Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия: Ежегодник Российской ассоциации клинических анатомов в составе ВНОАГЭ. Приложение к журналу «Морфологические ведомости» - Вып. 6. – Оренбург, 2006г. – С.81-85.
41. Мулдашев Э.Р., Нигматуллин Р.Т., Гафаров В.Г., Муслимов С.А., Гиззатуллина Л.Л., Шангина О.Р., Хасанов Р.А. Биологическая прокладка для лечения пульпита. Патент РФ на изобретение № 2276610 от 20 мая 2006г.
42. Шангина О.Р. Анализ структуры волокнистой соединительной ткани при различных видах радиационного воздействия // Морфология. Научно-теоретический медицинский журнал. Санкт-Петербург - № 4, том 129, 2006г. – С.139.
43. Шангина О.Р., Зарудий Р.Ф. Структурная организация аллотрансплантатов костей свода черепа // Морфология. Научно-теоретический медицинский журнал. Санкт-Петербург - № 4, том 129, 2006г. – С.139.
44. Кадыров Р.З., Шангина О.Р. Аллоплант - альтернатива донорской роговице при кератопластике // Вестник Оренбургского Государственного Университета. - Оренбург, ноябрь 2006 г.- С. 132-134.
45. Мулдашев Э.Р., Шангина О.Р., Хасанова Ю.С., Хасанов Р.А. Структурные модификации аллогенного сухожильного трансплантата и морфологические основы его замещения // Вестник Оренбургского Государственного Университета. - Оренбург, ноябрь 2006 г.- С. 214-217.
46. Мусина Л.А., Шангина О.Р., Мулдашева И.Э., Султанов Р.З. Структурные преобразования аллотрансплантатов при пластике посттравматических дефектов орбиты // Вестник Оренбургского Государственного Университета. - Оренбург, ноябрь 2006 г.- С. 222-223.
47. Мулдашев Э.Р., Нигматуллин Р.Т., Шангина О.Р., Чернов Н.В., Киселев Е.В. Социальные и медико-биологические аспекты трансплантации тканей. - Уфа. 2007.