

# Оптимизация регенерации тканей в условиях пролонгированной местной анестезии с использованием аллогенного биоматериала

ХУНАФИН С.Н., МУСЛИМОВ С.А., ЗЫКОВ О.В.

ФГУ Всероссийский Центр глазной и пластической хирургии  
Уфа, Россия

**РЕФЕРАТ.** Авторами разработаны методы создания комплексов биоматериалов Аллоплант с анестетиками. Показано, что лекарственные препараты высвобождаются по мере биодеградации диспергированного Аллопланта. При этом длительно поддерживается их терапевтическая концентрация в области инъекции биоматериала.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** пролонгированная местная анестезия, биоматериалы Аллоплант, комплексы с анестетиками.

## ВВЕДЕНИЕ

### *Актуальность темы*

В настоящее время в связи с повышением частоты травматических повреждений тканей при различных катастрофах и террористических актах особую актуальность приобретает лечение ран и переломов на фоне выраженного болевого синдрома. Также возрос интерес к проблеме послеоперационной боли и методам ее купирования, обусловленный появлением современных эффективных методов анальгезии и осознанием роли адекватного обез-

боливания в послеоперационной реабилитации пациентов (Овечкин А. М. и соавт., 1996, 2000; Спасова А.П., 1999).

Известно, что острая боль повышает ригидность мышц грудной клетки и передней брюшной стенки, что ведет к снижению функциональных показателей легких (Liu S. et al., 1995). Боль сопровождается гиперактивностью симпатической нервной системы, что клинически проявляется тахикардией, гипертензией и повышением периферического сосудистого сопротивления, повышает риск тромбообразования (Breivik H., 1995). Активация парасимпатической нервной системы на фоне болевого синдрома повышает тонус гладкой мускулатуры

кишечника со снижением перистальтической активности и развитием послеоперационного пареза (De Leon-Casasola O., 1993).

Интенсивная боль является одним из факторов реализации катаболического гормонального ответа на травму: задержки воды и натрия с увеличением секреции АДГ и альдостерона, а также гипергликемии (Kehlet H., 1994). Невозможность ранней мобилизации пациентов на фоне неадекватной анальгезии повышает риск венозного тромбообразования (Tuman K. et al, 1991).

Стойкие болевые синдромы после различных видов операций развиваются чаще, чем это принято считать (Kalso E. et al, 1992; Bell R., Vindenes H., 1994; Cousins M., 1994). Исследование состояния послеоперационного обезболивания на большом контингенте больных (Owen H. et al., 1990) показало, что адекватность анальгезии, по субъективным оценкам пациентов, не превышала 50%.

Вышеперечисленные факты, по-видимому, послужили толчком к интенсификации исследований, посвященных разработке новых методик анальгезии и поиску новых эффективных анальгетиков. Их успех основан на оптимизации способа введения анальгетика, что является одним из основных факторов эффективности обезболивания. Однако, при использовании этих способов плазменная концентрация анальгетика колеблется от пиковой до субанальгетической, а эффективная доза близка к той, которая вызывает угнетение дыхания (Hopf H., Weitz J., 1994).

Применение местных анестетиков имеет ряд преимуществ в отношении общего влияния на организм, но дает кратковременный обезболивающий эффект. Поэтому перспективной является разработка способа пролонгирования местной анестезии при минимальных дозах вводимых препаратов.

С другой стороны, оптимизация заживления ран после повреждений травматического характера, как в аспекте лечебного эффекта, так и в аспекте сокращения сроков лечения также весьма актуальна. Главной причиной неполноценной регенерации тканей при заживлении ран является фиброз, выраженность которого зависит от объема и характера повреждения, а также течения раневого процесса (Серов В.В., Пауков В.С., 1995; Abraham D.J. et al., 2000).

Исходя из этого, мы обратили внимание на данные по пролонгированному высвобождению глицина после имплантации диспергированного

биоматериала Аллоплант, импрегнированного вышеуказанной аминокислотой (Муслимов С.А., 2000). Известно также, что биоматериалы Аллоплант стимулируют регенерацию тканей и препятствуют рубцеванию при заживлении ран (Мулдашев Э.Р., 1994; Нигматуллин Р. Т., 1996; Муслимов С.А., 2000).

### *Цель исследования*

Изучить возможность использования диспергированного биоматериала в комплексе с анестетиком для пролонгирования местной анестезии и стимуляции регенерации поврежденных тканей и в послеоперационном периоде.

### *Задачи исследования*

1. Изучить возможность пролонгирования местной анестезии с помощью комплекса биоматериала с анестетиком.
2. Изучить морфологическую динамику резорбции диспергированного биоматериала, введенного в комплексе с анестетиком.
3. Изучить динамику восстановления анатомической структуры подкожно-жировой клетчатки после травмы на фоне пролонгированной местной анестезии.
4. Оценить эффективность обезболивания с помощью комплекса биоматериала с анестетиком в послеоперационном периоде у больных.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### *Материалы и методы экспериментального исследования*

Исследования были проведены на 88 крысах породы Вистар. Животные были разделены на три группы. В двух группах (по 32 крысы) хирургическим путем создавали дефект подкожной клетчатки объемом 1 см. Животным первой группы образовавшийся дефект заполняли аллогенным диспергированным биоматериалом, частицы которого были импрегнированы новокаином из 2 % раствора. Во второй группе животных дефект заполняли биоматериалом без анестетика. В третьей группе (12 крыс) дефект подкожной клетчатки ушивали кетгутотом. Животных выводили из опыта передозировкой барбитуратов через 3, 7, 14, 30, 90 и 180 суток после операций.

Методы морфологического исследования включали: анатомические (макро- и микропрепаровку), гистологические (окраска срезов гематоксилином и эозином, по Маллори, Ван-Гизону), гистохимические (окраска по Хейлу), иммуногистохимические (РСКА) и электронную микроскопию. Для радиоизотопного исследования вводили биоматериал, меченый  $C^{14}$ -глицином в дозе 10 мкКю/г. Исследование радиоактивности проводили на жидкостном сцинтилляционном анализаторе Бета-1 (Россия).

### *Материалы и методы клинического исследования*

Клинические исследования проведены на двух категориях больных, нуждающихся в длительном обезболивании и давших согласие на использование нового метода.

К первой категории были отнесены 42 больных с глубокими резаными и рваными ранами мягких тканей и выраженным болевым синдромом. В основной группе (22 больных) после первичной хирургической обработки, проведенной в условиях госпиталя, края ран были инфильтрированы суспензией биоматериала Аллоплант в комплексе с 2% новокаином. Суспензию готовили *ex tempore* путем разведения лиофилизированного порошкообразного биоматериала в растворе 1% новокаина. Диспергированный биоматериал Аллоплант (название по каталогу - "Стимулятор регенерации") разрешен к клиническому применению (Регистрационное удостоверение № 29/10081201/3584-02 Минздрава РФ от 22.02.2002 г., Сертификат соответствия № 3434546 Госстандарта России). В контрольной группе (20 больных) обезболивание осуществляли путем новокаиновых блокад и внутримышечного введения 1% промедола.

Ко второй категории больных были отнесены пациенты, нуждающиеся в послеоперационном обезболивании. В разработку были включены 26 пациентов после миниинвазивной холецистэктомии. В основной группе (12 пациентов) послеоперационная анальгезия осуществлялась путем интерплеврального введения 1% лидокаина с биоматериалом Аллоплант и обкалыванием краев послеоперационной раны. В контрольной группе (14 больных) обезболивание в послеоперационном периоде осуществляли путем дробного внутримышечного введения 1% промедола. Интерплевральную анальгезию проводили непосредственно в операционной, после окончания самого оперативного вмешатель-

ства, но до выхода пациента из состояния наркоза. В первые двое суток послеоперационного периода осуществлялся мониторинг числа сердечных сокращений (ЧСС), среднего артериального давления (САД) и насыщения гемоглобина кислородом ( $SO_2$ ) монитором "Viridia M3" фирмы "Hewlett Packard" (США). Тщательно регистрировались нежелательные эффекты испытуемого лечебного воздействия (аллергическая реакция, снижение артериального давления, идиосинкразия).

Выраженность болевого синдрома у обеих категорий больных оценивали по 10-балльной визуально-аналоговой шкале (Ферранте Ф.М., Вейдбонкора Т.Р., 1998) в состоянии покоя. Статистическая обработка осуществлялась с помощью пакета программ Microsoft Excel. Различия между сравниваемыми средними величинами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### *Динамика высвобождения лекарственного вещества из частиц биоматериала после подкожного введения*

Для исследования возможности пролонгирования действия местных анестетиков с помощью диспергированного биоматериала были проведены два эксперимента. Задачей первого эксперимента было исследовать возможность пролонгирования действия местного анестетика при подкожном введении суспензии биоматериала по динамике высвобождения радиоактивно меченого по углероду глицина ( $C^{14}$ ), а во втором эксперименте необходимо было по болевой чувствительности определить время пролонгирования действия местного анестетика (новокаина), которым был импрегнирован биоматериал.

Исследования показали, что  $C^{14}$ -глицин, которым были импрегнированы частицы диспергированного биоматериала, после имплантации с течением времени высвобождается из состава частиц. До 14 суток концентрация изотопа глицина в биоматериале падала постепенно, а потом высвобождение происходило более интенсивно в окружающей ткани концентрация меченого глицина нарастала в течение 10 суток, а потом происходило постепенное снижение концентрации  $C^{14}$ -глицина. Через 18 суток с момента введения суспензии диспергированного биоматериала определялись следовые концентрации изотопа. Необходимо отметить, что

градиент концентрации меченого глицина в окружающей ткани (1 см и 2 см от точки введения) был незначительным и после 10 суток становился статистически недостоверным.

Динамика изменения болевой чувствительности в основном коррелировала с данными предыдущего эксперимента. В опытной группе животных, которым в подушечку лапы был введен биоматериал с новокаином, болевая чувствительность отсутствовала в течение 12 суток после введения, а в ряде случаев болевая чувствительность не определялась и на 16 сутки. В контрольной группе (введение новокаина) болевая чувствительность восстанавливалась через 2-4 часа с момента введения.

### *Динамика биодеградации и резорбции аллогенного диспергированного биоматериала, импрегнированного новокаином*

Для суждения о морфологических изменениях в частицах диспергированного биоматериала после введения их в виде суспензии нами была обследована под микроскопом взвесь материала в виде мазка с окраской пикрофуксином на коллагеновые волокна. Частицы биоматериала хорошо воспринимали пикрофуксин, что является показателем сохранности структуры и тинкториальных свойств коллагеновых волокон, являющихся основным компонентом частиц.

Через 3 суток после введения диспергированного биоматериала, импрегнированного новокаином, было обнаружено, что частицы биоматериала довольно рыхло заполняли раневой дефект и в краевой зоне были умеренно инфильтрированы полиморфноядерными лейкоцитами и мононуклеарами. При окраске препаратов по Ван-Гизону частицы биоматериала окрашивались в красные тона, т. е. проявляли признаки фуксинофилии, характерной для нормальной структуры коллагеновых волокон.

По истечении 7 суток с момента введения обнаруживались признаки набухания и гомогенизации коллагеновых волокон в частицах биоматериала. Это выражалось в изменении их тинкториальных свойств. При окраске по Ван-Гизону волокна окрашивались в желтоватые тона, что указывает на начало их деградации. Кусочки биоматериала были инфильтрированы макрофагами. В краевой зоне клеточная инфильтрация была более плотной. Концентрация мононуклеарных фагоцитов также была

выше, чем в центральных участках. В ультраструктуре макрофагов выявлялись признаки активного фагоцитоза лизированных частиц биоматериала: в цитоплазме обнаруживались активные лизосомы и фаголизосомы. Гистологически определялись частицы введенного диспергированного биоматериала, которые были значительно меньшего размера, чем до введения. Выраженные морфологические изменения в коллагеновых волокнах биоматериала обнаруживались и при электронномикроскопическом исследовании. На первой стадии структурной дезорганизации коллагеновых волокон наблюдалось фракционирование коллагеновых фибрилл и протеогликанов, которые высвобождались из состава коллагеновых волокон. На второй стадии обнаруживалась деградация отдельных коллагеновых фибрилл с исчезновением поперечной исчерченности. Протеогликаны, высвобождающиеся при лизисе коллагеновых волокон, выявлялись более интенсивно и в большем количестве, чем в предыдущий срок.

Через 14 суток значительная часть введенных частиц биоматериала была резорбирована. Между оставшимися частицами биоматериала определялся клеточный инфильтрат макрофагально-фибробластического происхождения. Гомогенизированные частицы биоматериала были набухшими и окрашивались по Ван-Гизону в желтоватый цвет.

Через 30 суток с момента введения обнаруживались редкие частицы биоматериала с выраженными признаками структурной деградации, что проявлялось в значительном изменении их тинкториальных свойств.

На 60 и 90 сутки с момента введения частицы биоматериала визуально не обнаруживались.

### *Регенерация соединительной ткани в условиях пролонгированной местной анестезии с помощью диспергированного биоматериала*

В начальные сроки эксперимента (3 суток) в зоне имплантации биоматериала выявлялись признаки небольшого асептического воспаления, обусловленного операционной травмой. В подкожной клетчатке, окружающей область введения биоматериала, наблюдалась выраженная клеточная инфильтрация, в которой преобладали полиморфноядерные лейкоциты и макрофаги.

Через 7 суток после введения суспензии биоматериала клеточная инфильтрация обнаруживалась

как между частицами биоматериала, так и в самих частицах. В окружающей ткани количество клеток значительно увеличивалось за счет моноцитов, мигрирующих из кровеносного русла. Происходила постепенная смена лейкоцитарной инфильтрации на гистиоцитарную. Выявлялись макрофаги различной степени зрелости и дифференциации. Фибробластический ряд составляли малодифференцированные мезенхимные клетки, в небольшом количестве обнаруживались фибробласты.

В тканевом ложе выявлялись начальные признаки формирования грануляционной ткани со специфическими особенностями. Между частицами биоматериала обнаруживались новообразованные тонкие коллагеновые волокна, в которых на ультраструктурном уровне определялось наличие четкой регулярной поперечной исчерченности. Кроме того, выявлялись редкие новообразованные кровеносные сосуды мелкого калибра с удлинненными веретеновидными эндотелиальными клетками.

Через 14 суток уже можно было обнаружить структурные признаки регенерата, формирующегося на месте резорбированных частиц биоматериала. В клеточном инфильтрате обнаруживалось количественное преобладание фибробластов над макрофагами. Фибробласты выявлялись в виде упорядоченных однонаправленных групп (скоплений) и имели уплощенную форму и широкие цитоплазматические отростки.

В фибробластах обнаруживались признаки повышения функциональной активности. Они имели овальную форму, хорошо развитые каналы гранулярного эндоплазматического ретикулула, в просвете которых выявлялось мелкозернистое или гомогенное содержимое. Возле этих клеток обнаруживались тонкие разрозненные коллагеновые фибриллы. Наряду с активной резорбцией частиц биоматериала макрофагами происходило формирование зрелой грануляционной ткани в очаге введения. Рядом с набухшими пикринофильным кусочками биоматериала встречалось множество тонких фуксинофильных коллагеновых волокон. Визуально на гистологических препаратах выявлялись признаки продолжающейся дифференциации элементов новообразованной соединительной ткани в более зрелую.

В дальние сроки (30 суток) в зоне имплантации на месте частиц аллогенного биоматериала определялся васкуляризованный регенерат с относительнорыхлым расположением пучков коллагеновых

волокон. Новообразованные коллагеновые волокна представляли собой плотные оформленные пучки, окрашивающиеся по Ван-Гизону в интенсивный розовый цвет. Они имели разнонаправленную ориентацию и содержали умеренное количество аморфного вещества. В составе клеток фибробластического ряда определялись также фиброкласты. Они отличались наличием в цитоплазме большого количества разнокалиберных лизосом, фагосом с кусочками фибрилл. Цитоплазматическая мембрана клеток образовывала короткие инвагинации и псевдоподии, участвующие в захвате и переработке фрагментов коллагеновых волокон. Наряду с фиброкластами определялось небольшое количество макрофагов. Наличие в новообразованной ткани фиброкластов и признаки фагоцитоза фрагментов коллагеновых волокон указывают на то, что часть новообразованных волокон подвергается биодеструкции. Это свидетельствует о структурной дифференциации и созревании новообразованной соединительной ткани.

Кроме коллагеновых волокон в новообразованной соединительной ткани выявлялись мелкие кровеносные сосуды с признаками дифференциации на артериальные и венозные. В перифокальной зоне обнаруживались артериолы и венулы. В центральной части регенерата в промежутках между пучками коллагеновых волокон определялись капиллярные сети обычной конфигурации.

Через 60 суток с момента введения диспергированного биоматериала с новокаином на месте резорбированных частиц определялся регенерат с развитыми волокнистыми, сосудистыми и клеточными компонентами нормальной соединительной ткани.

Исследование динамики морфологических изменений при введении диспергированного биоматериала без анестетика выявило сходную картину восстановления подкожной соединительной ткани в области травматического дефекта. Наиболее наглядно это проявилось при иммуногистохимическом исследовании пролиферативной активности фибробластов- главных клеточных компонентов соединительной ткани (табл. 1). Различия в динамике пролиферативной активности фибробластов, выявленной по экспрессии ядерного антигена пролиферирующих клеток с подсчетом пролиферативного индекса, в опытной и контрольной группах животных оказались статистически недостоверными, кроме начального срока (7 суток).

**Таблица 1.** Пролиферативный индекс фибробластов ( $M \pm m$ ) после введения аллогенного диспергированного биоматериала и комплекса биоматериала с новокаином

| Вид биоматериала | 7 суток | 14 суток | 30 суток | 60 суток |
|------------------|---------|----------|----------|----------|
| ДБА              | 8,3±0,4 | 28,2±0,2 | 16,1±0,3 | 4,7±0,1  |
| ДБА с новокаином | 6,4±0,3 | 25,9±0,1 | 16,9±0,3 | 6,5±0,2  |

Таким образом, после заполнения травматического дефекта подкожно-жировой клетчатки крыс диспергированным биоматериалом с новокаином происходило рассасывание биоматериала и формирование на его месте регенерата с полноценной фиброархитектоникой, микрососудистым руслом и дифференцированными тканевыми элементами. Новообразованная соединительная ткань по структуре не отличалась от окружающей ткани.

#### *Оценка эффективности обезболивания при хирургическом лечении ран и в послеоперационном периоде после холецистэктомии*

После первичной хирургической обработки ран болевой синдром купировался у пациентов непосредственно после обкалывания краев раны суспензией диспергированного биоматериала с новокаином. В последующем при ежедневном обследовании и перевязках выраженность болевого синдрома, оцененная по визуально-аналоговой шкале, оставалась на уровне, исключающем дополнительное обезболивание опиатами. В контрольной группе выраженность болевых ощущений была достоверно выше вплоть до 4-го дня наблюдения (табл. 2).

**Таблица 2.** Оценка выраженности боли в послеоперационном периоде в баллах визуально-аналоговой шкалы

| Группы больных | Время после первичной хирургической обработки (сутки) |          |          |          |         |
|----------------|-------------------------------------------------------|----------|----------|----------|---------|
|                | 1                                                     | 2        | 3        | 4        | 5       |
| Основная       | 1,2±0,2                                               | 1,25±0,1 | 1,1±0,1  | 1,0±0,1  | 0,8±0,1 |
| Контрольная    | 2,7±0,1*                                              | 2,5±0,2* | 2,1±0,1* | 1,6±0,1* | 1,1±0,2 |

Примечание: различия достоверны с уровнем статистической значимости ( $p < 0,05$ )

В послеоперационном периоде после холецистэктомии пациенты приходили в сознание в период от 74 до 116 минут (в среднем через 85,4±15,3 мин.) с момента окончания оперативного вмешательства. Количественная оценка болевого синдрома в течение послеоперационного периода представлена в таблице 3.

Анализ интенсивности боли в зависимости от способа послеоперационного обезболивания показал, что по выходу из состояния медикаментозного сна, у пациентов второй группы появлялись болевые ощущения в зоне послеоперационной раны. Интенсивность боли при этом постепенно нарастала и достигала максимума к 5-6 часу после вмешательства. В последующем отмечалась тенденция к снижению интенсивности боли.

**Таблица 3.** Оценка выраженности боли в послеоперационном периоде в баллах визуально-аналоговой шкалы

| Группы больных | Время после операции |          |          |         |          |
|----------------|----------------------|----------|----------|---------|----------|
|                | 3 часа               | 6 часов  | 12 часов | 24 часа | 48 часов |
| 1 группа       | 1,4±0,1              | 1,65±0,2 | 1,7±0,1  | 1,7±0,1 | 1,2±0,2  |
| 2 группа       | 3,1±0,1*             | 3,3±0,1* | 2,2±0,1* | 1,7±0,1 | 1,1±0,2  |

Примечание: различия достоверны с уровнем статистической значимости ( $p < 0,05$ )

При выраженности болевого синдрома на уровне менее 2 единиц введение промедола прекращали. Обычно это происходило на вторые сутки послеоперационного периода. Необходимо отметить, что при межгруппном анализе оценки боли, по данным визуально-аналоговой шкалы, в первые 12 часов послеоперационного периода она была достоверно более значимой при анальгезии промедолом.

У больных первой группы не отмечалось каких-либо значимых изменений в интенсивности выраженности болевого синдрома в течении первых суток послеоперационного периода. В тоже время необходимо отметить, что на 8-10 час после операции отмечался пик интенсивности болевых ощущений (более 2 единиц) и это являлось, по нашему мнению, показанием для назначения однократной инъекции ненаркотического анальгетика – кетопрофена.

Не отмечено каких-либо значимых изменений гемодинамических показателей и уровня сатурации

крови кислородом в обеих группах больных. Они не выходили за пределы физиологических нормативных величин (табл. 4 и 5).

Нами не отмечено также и межгрупповых различий по анализируемым гемодинамическим параметрам и состоянию кислородного статуса крови.

**Таблица 4.** Гемодинамические параметры при интерплевральной анальгезии

| Показатели          | 3 часа   | 6 часов  | 2 часов  | 24 часа  | 36 часов |
|---------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| ЧСС, в мин          | 82,3+6,2 | 79,2+9,4 | 80,2+9,1 | 84,1+6,1 | 78,0+6,1 |
| САД, мм рт ст       | 93,2+3,4 | 97,2+2,2 | 95,1+3,7 | 96,0+3,1 | 96,5+3,1 |
| SO <sub>2</sub> , % | 92,4+1,2 | 94,6+0,8 | 93,1+1,6 | 96,0+1,1 | 97,3+0,8 |

**Таблица 5.** Гемодинамические параметры при послеоперационной анальгезии промедолом

| Показатели          | 3 часа   | 6 часов  | 12 часов | 24 часа  | 36 часов |
|---------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| ЧСС, в мин          | 85,1+5,2 | 72,1+8,9 | 69,8+5,7 | 71,6+5,2 | 71,2+7,6 |
| САД, мм рт ст       | 99,1+4,2 | 94,0+3,1 | 94,6+3,3 | 93,4+2,9 | 96,1+3,0 |
| SO <sub>2</sub> , % | 91,3+1,9 | 96,1+0,8 | 94,8+1,3 | 96,2±0,6 | 98,2+0,3 |

Каких-либо нежелательных эффектов, связанных с лекарственными препаратами и методиками послеоперационной анальгезии, в процессе наблюдения за исследуемыми больными, нами выявлено не было.

### Обсуждение полученных результатов

Морфологическое исследование показало, что уже в ранние сроки с момента операции обнаруживаются явления, характеризующиеся не только как реакция на операционную травму, но и как специфическая реакция на введенный биоматериал. Проявляется эта реакция в виде элиминации моноцитов из микрососудистого кровеносного русла и концентрации вокруг частиц биоматериала, что согласуется с данными предыдущих исследований биоматериалов Аллоплант (Муслимов С.А., 1984; Мулдашев Э.Р., 1994; Нигматуллин Р.Т., 1996)

В последующие сроки указанные клетки созревают и превращаются в активные макрофаги, лидирующие и фагоцитирующие фрагменты частиц биоматериала. Необходимо отметить, что макрофаги в том или ином количестве обнаруживались во все сроки эксперимента, до тех пор, пока в месте

введения сохранялись нерезервированные частицы биоматериала. На ключевую роль макрофагов в биодеградации коллагеновых волокон биоматериала и его резорбции указывают данные исследований Нигматуллина Р.Т. (1996), Муслимова С.А. (2000), Муслимова С.А. и соавторов (2003).

Установлено, что зрелые активные макрофаги являются регуляторами активности других клеточных популяций, участвующих в регенерации (Шехтер А.Б., Серов В.В., 1991; Нигматуллин Р.Т., 1996; Муслимов С.А., 2000). Показано, что при имплантации диспергированного биоматериала усиливается экспрессия макрофагами фактора некроза опухолей при относительно низкой экспрессии трансформирующего фактора роста (Muldashev E.R. et al., 2005). Известно, что трансформирующий (противовоспалительный) фактор роста является индуктором фиброза, за счет стимуляции пролиферации фибробластов и синтеза ими коллагена, что приводит к рубцеванию (Rodemann H.P. et al., 1996, Bissel D.M., 1998). А фактор некроза опухолей, известный как провоспалительный фактор, наоборот, способствует предупреждению фиброза за счет конкурентного подавления активности трансформирующего фактора роста (Abraham D.J., et al., 2000). Результаты, полученные в нашей работе, подтверждают вышеприведенное научное положение. Изучая по срокам динамику морфологических изменений в зоне введения биоматериала и окружающей ткани, мы не обнаруживали признаков фиброза. Об этом косвенно свидетельствуют относительно низкий уровень пролиферативной активности фибробластов во все сроки эксперимента и отсутствие ультраструктурных признаков избыточного синтеза коллагена. Более того, в поздние сроки (30 суток) на препаратах нами были обнаружены фиброкласты с фагоцитированными фрагментами коллагеновых волокон, что согласуется с результатами исследования Лебедевой А. И. (2004). Фиброклазия считается проявлением физиологического характера заживления раны и является главным способом трансформации рубца в нормальную ткань (Серов В.В., Шехтер А. Б., 1981; Шехтер А.Б., 1995; Лебедева А.И., 2004).

Кроме особенностей фиброархитектоники, показателем структурной полноценности новообразованной ткани является также обнаруженное нами адекватное развитие микрососудистой сети и сохранение ее плотности в конечные сроки эксперимента, что соответствует аналогичным результатам, полученным при экспериментальной аллопластике

биоматериалом Аллоплант (Муслимов С.А., 1984; Нигматуллин Р.Т., 1996; Кузин А.А. и соавт., 1998). Вышеописанный процесс регенерации подкожной соединительной ткани у экспериментальных животных осуществляется в условиях местной анестезии за счет новокаина, высвобождающегося из состава частиц биоматериала. Следует отметить, что идея использования биоматериалов для пролонгирования действия лекарственных веществ не нова. Еще в 1976 году (Хилькин А.М. и соавт., 1976) были опубликованы результаты исследований по комплексообразованию биологического материала-коллагена с некоторыми лекарственными препаратами. Было показано, что коллаген, полученный из соединительной ткани и являющийся ее основным компонентом, может образовывать комплексы с такими веществами как гепарин и антибиотики. Так как в указанных комплексах между компонентами отсутствует химическая связь, то лекарственное вещество высвобождается в неизменном виде (Хилькин А.М. и соавт., 1976; Shinde B.G., Erhan S., 1992).

Диспергированный биоматериал Аллоплант, большую часть которого (76,4%) составляет коллаген (Хасанов Р.А., 1999), по-видимому, также не вступает в химическую связь с анестетиком (новокаином), поэтому анестезирующее действие новокаина при высвобождении из состава биоматериала сохраняется, на что указывают результаты нашего эксперимента. Однако пролонгирующий эффект при использовании диспергированного биоматериала как носителя лекарственного препарата более продолжительный, чем при использовании коллагена. Результаты эксперимента с введением биоматериала в комплексе с радиоактивно меченым глицином, а также введением комплекса с новокаином в подушечки лап подопытных животных показали, что эффективная концентрация анестетика поддерживается до 12 суток с момента введения биоматериала в комплексе с анестетиком. Пролонгирующий эффект коллагена гораздо ниже: действующую концентрацию лекарственных препаратов удавалось пролонгировать только до 3-х суток (Хилькин А.М. и соавт., 1976).

Объяснение этого факта, вероятно, кроется в различной скорости лизиса и резорбции биоматериалов. Известно, что деградация и резорбция биоматериала Аллоплант после введения происходят в более длительные сроки, чем коллагеновых препаратов (Муслимов С.А., 2000). По данным А. М. Хилькина и соавторов (1976) максимальная продолжительность нахождения частиц коллагена,

необработанного альдегидами, составляет 15 дней. Время лизиса и деградации частиц биоматериала Аллоплант составляет почти 60 суток. Наши данные подтверждают результаты исследований, проведенных Муслимовым С.А. (2000) и Лебедевой А.И. (2004). По-видимому, большой период лизиса и деградации частиц биоматериала Аллоплант связан с тем, что биоматериал, содержащий в своем составе коллаген и структурно связанные с ним протеогликаны и структурные гликопротеины, проявляет большую устойчивость к ферментативному лизису (Муслимов С.А., 2000).

Исследование по послеоперационному обезболиванию, проведенное в клинике у больных, перенесших холецистэктомию, подтвердило результаты экспериментального исследования. Выраженность болевых ощущений в послеоперационном периоде, оцененная по визуально-аналоговой шкале, была достоверно более низкой у больных основной группы по сравнению с контрольной, что свидетельствует о высокой эффективности однократного интравенального введения комбинации лидокаина с диспергированным биоматериалом Аллоплант для послеоперационного обезбоживания.

Таким образом, по результатам нашего исследования можно заключить, что аллогенный диспергированный биоматериал в комплексе с анестетиком является эффективным стимулятором регенерации тканей, а также позволяет обеспечить длительное обезбоживание на период заживления. Метод может быть использован для обеспечения комфортности послеоперационного периода при оперативных вмешательствах малой и средней травматичности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение аллогенного диспергированного биоматериала в комплексе с анестетиком позволяет оптимизировать условия для восстановления анатомической структуры и регенерации тканей после повреждения и обеспечить адекватное обезбоживание на период заживления.

Стимулирующее влияние диспергированного биоматериала на регенерацию тканей при использовании в комплексе с новокаином основано на постепенном лизисе биоматериала активными макрофагами и создании условий для активной пролиферации и дифференциации клеток.

Использование биоматериала как депо анестетика позволяет пролонгировать обезболивающее действие препарата. Пролонгирующий эффект диспергированного биоматериала основан на постепенном высвобождении анестетика из состава частиц биоматериала по мере их лизиса и резорбции.

Клинический эффект пролонгированной местной анестезии с использованием биоматериала сопоставим с эффективностью традиционной схемы обезболивания промедолом.

Диспергированный биоматериал в комплексе с анестетиком может быть использован для послеоперационного обезболивания при оперативных вмешательствах малой и средней травматичности. Местная анестезия с использованием биоматериала

Аллоплант в комплексе с анестетиком может быть использована для длительного обезболивания при хирургическом лечении различных повреждений. Указанный метод рекомендуется применять для предупреждения болевого синдрома в послеоперационном периоде при оперативных вмешательствах малой и средней травматичности.

Возможно интраоперационное применение биоматериала Аллоплант в комплексе с анестетиком для купирования болевых ощущений, как во время хирургической операции, так и в послеоперационном периоде. Биоматериал Аллоплант в комплексе с анестетиком может также использоваться для длительного купирования стойких болевых синдромов в онкологической и неврологической практике.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Хасанов Р.А. Динамика морфологических изменений при имплантации диспергированного биоматериала, импрегнированного анестетиками / Р.А. Хасанов, О.В. Зыков, С.Л. Муслимов // Морфология.- 2002.- № 2-3.- С. 166.

2. Мусина Л.А. О роли макрофагов в регенерации соединительной ткани при имплантации биоматериалов. /Л.А. Мусина, С.А Муслимов, А.И. Лебедева, О.В. Зыков // Здоровоохранение Башкортостана.- 2004.- № 4.- С. 146-149.

3. Зыков О.В. Оценка эффективности интерплевральной анальгезии для послеоперационного обезболивания при миниинвазивной холецистэктомии. / О.В. Зыков, С.Н. Хунафин // Медицинский вестник МВД,- 2004.- №6(19). -С. 14-16.

4. Muldashev E.R. The use of Alloplant biomaterials prolong the drugs effect. / E.R. Muldashev, R.A. Khasanov, S.A. Muslimov, O.V. Zykov, A.D. Knyazev // 13th International Congress of the European Association of Tissue Banking. -Oct. 13-16, 2004.-Prague, 2004.-P. 139.