

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

СОГЛАСОВАНО

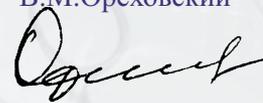
Заместитель начальника
Главного управления кадровой политики,
учебных заведений и науки Н.И. Доста



29 мая 2001

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель
министра здравоохранения
В.М.Ореховский



30 мая 2001 г.
Регистрационный № 59-0301

**ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННЫЙ КОСТНЫЙ МАТРИКС В
РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ
ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ**

Гродно 2001

[Перейти к оглавлению](#)

Учреждение разработчик: Гродненский государственный медицинский университет

Авторы: д-р мед. наук, проф. С.И. Болтрукевич, канд. мед. наук, доц. А.В. Калугин, канд. мед. наук И.П. Богданович, А.А. Замилацкий, канд. мед. наук В.А. Иванцов, канд. мед. наук, доц. А.В. Першукевич, И.А. Першукевич

Рецензенты: д-р мед. наук, проф. И.Р. Воронович, чл.-кор. БАМН, д-р мед. наук, проф. Н.И. Батвинков

Целью методических рекомендаций является ознакомление травматологов-ортопедов, нейрохирургов, стоматологов и отоларингологов с методиками заготовки, обработки, консервации и хранения биологических тканей для трансплантации. В них кратко изложено обоснование методики приготовления и консервации деминерализованного костного матрикса в жидких средах на основе слабых растворов альдегидов. Метод разработан на кафедре травматологии, ортопедии и ВПХ Гродненского государственного медицинского университета и с успехом применяется в ГКО СМП г. Гродно, Гродненской областной клинической больнице, в БелНИИ ТО, НИИ неврологии, нейрохирургии и физиотерапии.

Сведения об этой методике будут полезны для врачей травматологов-ортопедов, нейрохирургов, стоматологов, отоларингологов, занимающихся вопросами пластической хирургии.

Методические рекомендации утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь в качестве официального материала.

Оглавление

ЗАГОТОВКА ТКАНЕЙ	5
МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ДЕМИНЕРАЛИЗИРУЮЩИХ СОСТАВОВ	7
ДЕМИНЕРАЛИЗАЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ	8
МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНСЕРВИРУЮЩИХ СОСТАВОВ.....	10
МЕТОДИКА КОНСЕРВАЦИИ ТРАНСПЛАНТАТОВ ДКМ	11
Показания к применению ДКМ	11
Противопоказания к применению ДКМ	12
ОСНОВЫ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ПОДГОТОВКИ ПАЦИЕНТОВ.....	13
ПРИНЦИПЫ ВЫПОЛНЕНИЯ ВМЕШАТЕЛЬСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДКМ	14
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЕ ВЕДЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ	16
ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ДКМ.....	18

Вопросы хирургической реабилитации пациентов с повреждениями опорно-двигательной системы и их последствиями тесно связаны с необходимостью восстановления анатомо-функциональной целостности костных образований скелета и имеют не только медицинскую, но и социальную значимость.

Выполнение реконструктивно-восстановительных вмешательств на опорно-двигательной системе тесно связано с использованием различных костно-пластических материалов. Исследования ведутся по нескольким направлениям — совершенствование способов приготовления и консервации биологических тканей, поиск новых видов полноценных имплантатов, совершенствование оперативной техники вмешательств.

В последние годы пристальное внимание хирургов различных специальностей уделяется так называемому деминерализованному костному матриксу (ДКМ) — костной ткани, лишенной минеральной основы.

В клиниках ГрГМУ более 15 лет активно ведутся работы как по совершенствованию методик приготовления и консервации ДКМ, так и в направлении расширения диапазона использования костного матрикса и разработки оперативных методик.

Так, в клинике нейрохирургии ГрГМУ ДКМ использован при 72 вмешательствах; в клинике челюстно-лицевой хирургии — у 48 пациентов; в клинике оториноларингологии — при 36 вмешательствах; в клинике травматологии и ортопедии — в 152 вмешательствах у 148 больных. Причем особые свойства ДКМ — высокая биопластичность, остеоиндуктивность, устойчивость к микробному агенту, низкая антигенность — позволили успешно использовать этот материал в условиях постинфицированной раны у 38 пациентов.

Результаты собственных исследований по применению ДКМ как высокопродуктивного костно-пластического материала у 180 больных легли в основу данных методических рекомендаций.

ЗАГОТОВКА ТКАНЕЙ

Использование трупных тканей человека регламентируется Законом Республики Беларусь «О трансплантации органов и тканей» (Минск, 1997) и соответствующим приказом Минздрава Республики Беларусь от 30 сентября 1991 г. В соответствии с этими документами забор тканей производится в секционном зале с разрешения судмедэксперта от плодов и трупов людей, скоропостижно скончавшихся в результате травм, сердечно-сосудистых заболеваний, асфиксии, отравления этиловым алкоголем. Ткани не забираются у погибших, страдавших туберкулезом, венерическими, инфекционными, онкологическими заболеваниями, ВИЧ-инфицированных, перенесших различные виды гепатита, после отравлений ядами.

Забор материала осуществляется в первые 12–24 ч после смерти при условии хранения тела в холодильной установке морга. Ткани, заготовленные после 12 ч после смерти при хранении тела вне охлаждения либо заготовленные позже 24 ч после наступления смерти существенно теряют биопластические свойства.

Перед изъятием тканей труп подвергается санитарной обработке. Без строгого соблюдения правил асептики рассекаются мягкие ткани и производят изъятие необходимых тканей в требуемых размерах (фасция, сухожилия, сосуды, твердая мозговая оболочка, хрящи, кости). Изъятые костные фрагменты замещают протезами из гипса, металла или дерева, чтобы не обезобразивать труп.

Кроме того, во время оперативных вмешательств при удалении больших фрагментов трубчатых костей, крыши черепа и при наличии противопоказаний к реимплантации эти фрагменты изымаются для обработки, консервации и последующей отсроченной аутопластики.

Деминерализованный костный матрикс в реконструктивно-восстановительной хирургии...

Изъятые ткани промывают проточной водой, изотоническим раствором натрия хлорида, после чего они пригодны к консервации.

При заборе тканей берутся пробы крови для исследования на ВИЧ инфицирование, венерические заболевания, маркеры гепатитов и т.д.

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ДЕМИНЕРАЛИЗИРУЮЩИХ СОСТАВОВ

В качестве основного деминерализирующего вещества для приготовления составов используется 38% водный раствор соляной кислоты.

С целью деминерализации различных по объему фрагментов костной ткани используются 4,8 N и 2,4 N растворы хлористоводородной кислоты.

Для приготовления 1 л 4,8 N раствора необходимо 126,3 мл 38% соляной кислоты довести до 1 л дистиллированной водой.

Для приготовления 1 л 2,4 N раствора необходимо 63,1 мл 38% соляной кислоты довести до 1 л дистиллированной водой.

Все работы проводятся в хорошо вентилируемом помещении с соблюдением мер предосторожности (резиновые перчатки, очки, вытяжная принудительная вентиляция рабочего места) и правил техники безопасности при работе с кислотами и щелочами.

При наличии больничной аптеки целесообразно заказывать необходимое количество составов нужных концентраций в ней.

ДЕМИНЕРАЛИЗАЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

После отмывки от крови костные фрагменты тщательно освобождаются от мягких тканей (мышц, сухожилий, надкостницы), костного мозга. Причем удаление последнего осуществляют механическим путем (ложкой Фолькмана, скальпелем, распатором) и пульсирующей водной струей особенно тщательно, так как костный мозг является основным носителем антигенов в костной ткани и, кроме того, препятствует доступу деминерализующего состава к костному веществу. Крупные костные фрагменты распиливаются пилой Джигли либо механической пилой (циркулярной или маятниковой) на более мелкие, требующихся размеров и формы (чаще используемые).

Затем полученные фрагменты тщательно отмываются в струе воды от стружек и опилок.

После этого осуществляют обезжиривание фрагментов 70% раствором этилового спирта либо эфиром и материал погружается в деминерализующие составы.

Мелкие костные фрагменты с толщиной кортикального слоя до 2–2,5 мм помещаются в 2,4 N раствор соляной кислоты на 24–36 ч.

Более крупные фрагменты с толщиной кортикального слоя 3–5 мм подвергаются двухэтапной обработке — вначале в течение 12–24 ч в 4,8 N соляной кислоты, затем до 48 ч и иногда более в 2,4 N растворе.

Деминерализация осуществляется в условиях бытового холодильника при температуре +2–4° С при соотношении костно-пластический материал к кислоте как 1:5.

При извлечении костных фрагментов из растворов кислоты осуществляют контроль за полнотой деминерализации (прокол иглой, скручивание по оси, изгиб).

Деминерализованный костный матрикс в реконструктивно-восстановительной хирургии...

После завершения процесса деминерализации трансплантаты извлекаются из раствора соляной кислоты, промываются проточной водой в течение 20–30 мин, остатки кислоты погашают, помещая материал в 5% раствор тиосульфата натрия на 12–24 ч. Признаком полной нейтрализации кислоты служит прекращение помутнения раствора тиосульфата натрия. Затем ДКМ извлекают из тиосульфата натрия, промывают в физиологическом растворе NaCl и помещают в консервирующий состав.

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНСЕРВИРУЮЩИХ СОСТАВОВ

Консервирующие смеси готовятся в соответствии с методиками, предложенными С.И. Болтрукевичем (А.с. № 1012856, 1984) и С.И. Болтрукевичем и соавт. (А.с. № 1497704, 1989).

Для этого в качестве базовых используются растворы 38% нейтрального формальдегида (формалин) и 25% или 50% глутарового альдегида.

Из 38% раствора формальдегида путем добавления 996 мл изотонического раствора NaCl готовится 0,4% раствор.

Из 50% раствора глутарового альдегида готовится 0,1% раствор (к 2 мл 50% раствора добавляется 998 мл изотонического раствора NaCl).

После этого растворы смешиваются в соотношении 1:1 (А.с. № 1012856). На 1 л консервирующей смеси добавляется 30 мг/л никотиновой кислоты, 450 мг/л пантотената кальция и 10 мг/л димексида (А.с. № 1497708).

РН среды доводят до 7,0–7,4 путем введения в консервант фосфатного буфера в количестве 30 мл/л.

МЕТОДИКА КОНСЕРВАЦИИ ТРАНСПЛАНТАТОВ ДКМ

Готовый ДКМ хранят в эквиобъемной смеси 0,4% формалина и 0,1% глутарового альдегида. Для улучшения адаптации трансплантатов к тканям реципиента и оптимизации процессов трансформации, повышения устойчивости к инфекции в консервирующий состав вводятся биологически активные добавки — никотиновая кислота (30 мг/л), кальция пантотенат (450 мг/л), димексид (10 мг/л) (А.с. № 1497708). Эти биоактивные вещества способствуют более равномерному и глубокому проникновению в пластический материал компонентов консерванта и обеспечивают энергетическую основу процесса его трансформации. Соотношение тканей и консерванта соблюдают как 1:6–8.

Хранение осуществляют в плотно закрытых стеклянных емкостях с притертыми пробками (эксикаторах) в условиях бытового холодильника с температурным режимом +2–4° С.

Консервант следует менять в течение первого месяца один раз в неделю, затем один раз в 1–2 мес.

Пластический материал пригоден к клиническому применению со сроком консервации не менее 20 дней и до 12–18 мес. В процессе хранения материала ежемесячно производится бактериологический контроль и определение стабильности консервирующей смеси.

Показания к применению ДКМ

1. Дефекты костей конечностей, позвоночника и свода черепа.
2. Ложные суставы и несросшиеся переломы костей конечностей.
3. Реконструктивные вмешательства на опорно-двигательной системе.
4. Заполнение костных дефектов при артропластике суставов конечностей.
5. Остеопластика при доброкачественных новообразованиях костей и суставов конечностей.
6. Обтурация костных каналов при спицевых остеомиелитах после санлирующей операции.

7. Первичная пластика постостеомиелитических дефектов после их резекции.
8. Мастоидо- и альвелопластика.

Противопоказания к применению ДКМ

1. Острые воспалительные процессы соматического генеза.
2. Старческий возраст и тяжелые сопутствующие заболевания.
3. Воспалительные процессы в зоне оперативного вмешательства (инфильтраты, абсцессы, флегмоны и т.п.).
4. Остеомиелитические язвы и кожные дефекты.
5. Трофические изменения кожи и кости.
6. Выраженные нарушения лимфо- и кровообращения конечностей.
7. Декомпенсированные формы сахарного диабета.

ОСНОВЫ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ПОДГОТОВКИ ПАЦИЕНТОВ

В основе предоперационной подготовки пациентов, которым предполагается оперативное вмешательство с применением аллотрансплантатов ДКМ, лежит комплекс лечебно-диагностических мероприятий, направленных на коррекцию расстройств жизненно важных функций организма и на улучшение трофики оперируемого сегмента.

С этой целью проводится комплексное обследование пациентов, консультации смежных специалистов (терапевт, кардиолог, невропатолог и т.п.), терапия нарушений сердечно-сосудистой, дыхательной деятельности, функции желез внутренней секреции, санация полости рта и т.д. По показаниям выполняют реовазографию сосудов конечностей, ангиографию, плетизмометрию, электродиагностику, и т.д. В течение 3–5 дней пациентам вводят 5% раствор глюкозы с инсулином и витаминами С и В, белково-содержащие препараты (альбумины, растворы аминокислот и др.), препараты реологического действия (реополиглюкин, реоглюман), кристаллоидные растворы (раствор Рингера — Локка, трисоль). При наличии ран проводится бактериологическое исследование отделяемого, изучается не только характер микрофлоры и ее чувствительность к антибактериальным препаратам, но и уточняется микробное число. По результатам антибиотикограмм проводится соответствующая антибиотикотерапия за трое суток до оперативного вмешательства.

Важное значение имеет локальная подготовка сегмента к вмешательству. Проводится санация кожных покровов, для улучшения трофики и микроциркуляции назначают бальзамические компрессы, повязки с антисептическими растворами (хлоргексидин и т.п.).

ПРИНЦИПЫ ВЫПОЛНЕНИЯ ВМЕШАТЕЛЬСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДКМ

Техника оперативного вмешательства заключается в экономной резекции патологического очага или в фистулосеквестрнекроэктомии, обработке костного ложа антисептиками, ультразвуковой кавитации постинфекционных полостей, тщательном гемостазе. Послеоперационные дефекты кости замещаются трансплантатами ДКМ необходимого размера и формы. Перед трансплантацией костный матрикс извлекают из консервирующей смеси и на 30–40 мин помещают в стерильный изотонический раствор хлорида натрия с целью отмывания консервирующей смеси, что уменьшает реакцию окружающих тканей на ее компоненты, сохраняющиеся в пересаживаемом трансплантате. При выборе необходимого по размерам и форме трансплантата ДКМ исходят из размеров остаточной полости, ее конфигурации. Так, при больших дефектах (более 5 см) применяют комбинированные формы (цельную, расщепленную и измельченную) ДКМ, при средних (от 2 до 5 см) и малых (менее 2 см) дефектах — измельченный ДКМ. При заполнении костных полостей важно добиться плотного соприкосновения пластического материала с костным ложем реципиента и создания их неподвижности путем вклинения или фиксации спицами, винтами, стержнями, компрессионно-дистракционными аппаратами. Промежутки между цельными фрагментами ДКМ заполняют расщепленным и измельченным ДКМ. Для улучшения реваскуляризации и последующей перестройки крупных трансплантатов ДКМ (более 5 см) производят их сквозную перфорацию с помощью сверла диаметром 1–2 мм. Отверстия наносят в шахматном порядке на расстоянии 5–10 мм друг от друга, обеспечивая большую площадь адаптации аллогенного материала с ложем реципиента, что улучшает его реваскуляризацию и стимулирует остеогенез.

При пластике постостеомиелитических полостей для повышения устойчивости матрикса к инфекции импрегнировали его антибиотиками (кефзол или линкомицин) с учетом антибиотикограммы. Для этого трансплантат в течении 1–1,5 ч насыщали антибиотиками методом электрофореза при плотности тока 0,1 мА на см² (А.с. № 1220684). Концентрация антибиотика в ткани трансплантата составляла $34,7 \pm 3,24$ мкг/г.

Операцию заканчивали закрытием обнаженной кости кожно-фасциальным лоскутом и проточным дренированием раны. В качестве диализирующего раствора использовали хлоргексидин, смесь формолового и глутарового альдегидов, периодически (3–5 раз в сутки) перекрывая дренаж на 20–30 мин с целью усиления бактерицидного воздействия смеси альдегидов на микрофлору раны. Швы снимали на 12–14-е сутки.

ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЕ ВЕДЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ

В послеоперационном периоде осуществляется наблюдение за состоянием пациента, функционированием дренажной системы, которую удаляют через 12–14 дней после пластического замещения остеомиелитического очага кости. Антибактериальные препараты назначаются направленно с учетом данных антибиотикограммы. Их целесообразнее вводить внутривенно, внутриартериально или эндолимфатически.

С целью стабилизации иммунологического статуса пациента и профилактики развития вторичных иммунодефицитов проводят курс иммуномодулирующей терапии, назначая метилурацил, Т-активин, тимоген, тималин, нормальный человеческий иммуноглобулин, переливание гипериммунной стафилококковой плазмы.

Для дезинтоксикации, улучшения микроциркуляции и реологических свойств крови целесообразна инфузионная терапия (5% раствор глюкозы с инсулином, витамины группы В и С, трентал, сермион, реополиглюкин, гемодез и т.д.).

В ряде случаев прибегают к назначению десенсибилизирующих препаратов, проведению экстракорпоральных методов детоксикации (ультрафиолетовое облучение крови, внутриартериальное лазерное воздействие).

Продолжительность внешней фиксации конечности гипсовой повязкой или компрессионным аппаратом зависит от характера и локализации патологического процесса, объема оперативного вмешательства.

При аллопластике больших костных дефектов, реконструктивных вмешательствах средние сроки иммобилизации составляют 3–6 мес., при несросшихся переломах, ложных суставах и после удаления гнойного очага с костной пластикой — 6–8 мес.

В процессе лечения пациентов в клинике, а после выписки — в амбулаторно-поликлинических условиях выполняют контрольные рентгенограммы, компьютерную томограмму оперированного сегмента. Их выполняют не реже одного раза в месяц при коррекции компрессионно-дистракционного аппарата, при смене гипсовой повязки, после консолидации перелома, а также окончательного снятия иммобилизации.

ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ДКМ

При нарушении правил заготовки, консервирования и хранения пластического материала, не радикальном удалении патологического очага, плохой подгонке и фиксации трансплантатов в костном ложе, нарушении правил асептики и антисептики возможны следующие осложнения:

- некроз краев ран,
- нагноение послеоперационной раны,
- рецидив воспалительного процесса костной ткани,
- отторжение аллотрансплантата,
- рассасывание ДКМ,
- снижение остеоиндуктивного потенциала ДКМ.

С целью профилактики вышеуказанных осложнений необходимо строгое соблюдение условий трансплантации и ведения послеоперационного периода.