

617:615.46:547.491.1

NOVÝ TYP TKÁŇOVÉHO LEPIDLA NA BÁZI POLYURETANU A JEHO POUŽITÍ V EXPERIMENTÁLNÍ CHIRURGII

T. E. LIPATOVA, G. A. PCHAKADZE, T. L. TEREŠČENKO, L. ŠPRINCL, J. KÁLAL, J. KOPEČEK

Institut chemie vysokomolekulárních sloučenin AN USSR, Kijev

(ředitel: prof. J. S. Lipatov, DrSc.)

patologicko-anatomické oddělení Ústřední vojenské nemocnice, Praha

(náčelník: doc. MUDr. Miloš Vorreith, CSc.)

Ústav makromolekulární chemie ČSAV, Praha

(ředitel: prof. ing. Karel Friml, člen korespondent ČSAV)

Úvod

Použití syntetických polymerních lepidel v lékařství odkrývá nové perspektivy pro chirurgické obory. Umožňuje významně rozšířit

paletu chirurgických výkonů a snížit počet pooperačních komplikací.

V současné době jsou nejvíce rozšířené jak v experimentální, tak v klinické chirurgii lepidla na bázi derivátů kyanoakrylové kyseliny.

Nehledě na nepochybně kladné vlastnosti těchto lepidel, mají kyanoakryláty řadu nedostatků: jsou-li aplikovány při nedostatečné vlhkosti prostředí, snižují se jejich adhezivní vlastnosti; polymerizují předčasně ve vlhkém prostředí; vytvořený polymerní kryt je nedostatečně elastický; polymerizaci nelze časově regulovat. Další nevýhodou těchto lepidel je jejich toxicita [8]. I když lze strukturou esterového alkylu v polymerních esterech kyselin α -kyanokrylové toxicitu ovlivňovat, nepodařilo se zatím připravit zcela netoxické lepidlo na této bázi.

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem stojí před chemii úkol zlepšit dosud užívané a vytvořit nové lepicí kompozice lékařského určení.

V institutu chemie vysokomolekulárních sloučenin AN USSR bylo syntetizováno lepidlo KL-3 na bázi polyuretanu, které, jak bylo již dříve ukázáno, může být s úspěchem použito v různých chirurgických aplikacích [1, 2, 5, 11]. Lepivá kompozice je složena z reakčních složek a z katalyzátoru polymerizace. Přidáním různého množství katalyzátoru je možné regulovat dobu polymerizace (tuhnutí) v širokých intervalech. Tkáňové lepidlo KL-3 neztrácí lepicí vlastnosti při styku s tkáňovými tekutinami a polymerní kryt z něho vytvořený je porézní a vysoce elastický.

V této práci jsme sledovali reakci živých tkání na polyuretanové lepidlo KL-3 především při nanesení kompozice bez poranění tkáně (na povrch orgánu), dále při ošetření chirurgických řezů parenchymatózních orgánů.

Materiál a metodika

Pokusy byly prováděny na králících druhu Stříbrná činčila o váze 2–2,5 kg. V první sérii pokusů v éterové narkóze s dodržováním zásad sterility byla provedena střední laparatomie a na povrch ledviny, jater, tenkého a tlustého střeva byla nanášena vrstva lepidla KL-3 na plochu cca 30 mm². Lepidlo bylo rovněž nanášeno po odstranění fascie na povrch kosterního svalu. Sledování bylo prováděno v intervalech od 1 hodiny do 12 měsíců po operaci. Jako kontroly bylo použito zvířat, kterým byla provedena v éterové narkóze střední laparatomie bez aplikace lepidla. Řezy tkání spolu se zbytky polymerního krytu byly barveny hematoxylinem a eozinem, podle van Giesona, podle Bracheta, podle Feulgena, Sudanem IV a Sudanem Black.

V druhé sérii pokusů po provedení laparatomie byla uvolněna pravá ledvina a vtažena do dutiny břišní. Renální artérie byla uzavřena měkkou svorkou a byl proveden podélný řez parenchymem ledviny. Rána byla vysušena a po nanesení tenké vrstvy lepidla byly okraje rány k sobě přiblíženy. Za 5–6 min. po polymerizaci lepidla byla svorka sejmuta a ledvina vrácena na své místo. Řezná rána do jater-

ního parenchymu délky 2–2,5 cm byla ošetřena nanesením lepidla KL-3 a přiblížením okrajů rány pomocí zajišťovacího stehu. Operační rána byla uzavřena po vrstvách a kůže stěny břišní byla uzavřena pomocí lepidla a zajišťovacích situačních stehů. Řezy byly barveny hematoxylinem a eozinem a podle van Giesona.

Výsledky

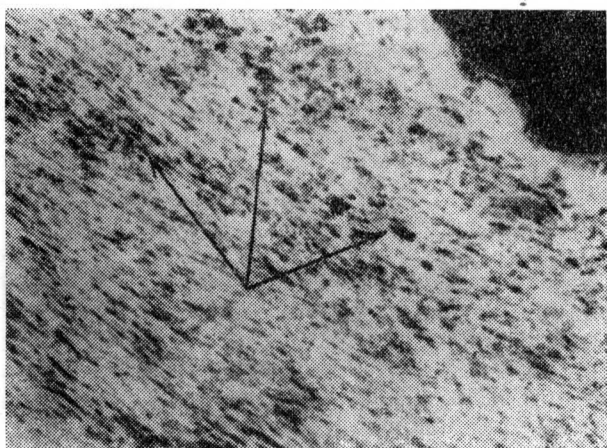
V první skupině je interval 6–24 hodin po operaci charakterizován nálezem polynukleárních leukocytů pod vrstvou lepidla. Čtvrtý den se pod vrstvou lepidla, jehož póry se vyplňují plazmou a fibrinem, objevuje infiltrát, sestávající z lymfocytů, polynukleárních leukocytů, makrofágů, plazmatických buněk a fibroblastů. Buněčná infiltrace je výraznější u krytu svalu a střeva. Sedmý den se v okraji buněčného infiltrátu objevuje nahromadění fibroblastů orientovaných na spodinu polymerního krytu. Mezi fibroblasty se objevují kolagenní vlákna jemně se barvící fuchsinem. V úsecích přiléhajících k polymeru se hromadí buněčná infiltrace. Fibroblasty v této zóně jsou uloženy kolmo k polymernímu krytu, jakoby pronikaly do jeho pórů. Buněčné elementy se vyznačují vysokou pyroninofilí. Buněčná jádra se barví Schiffovým reagens. Místy nacházíme obrovské mnohojaderné buňky typu z cizích těles.

Počínaje 14. dnem od operace nacházíme kolem polymeru dvě zóny. První přiléhá bezprostředně k polymernímu krytu a představuje nezralou granulační tkáň, tvořenou fibroblasty, makrofágy a lymfocyty. Bezprostředně k částkám lepidla přiléhají také obrovské mnohojaderné buňky typu z cizích těles. Granulační tkáň proniká do otvorů polymerů. Druhá zóna představuje pouzdro ze zralé vazivové tkáně. Fibroblasty jsou zde uloženy paralelně s polymerním krytem, jejich pyroninofilie se snižuje, mezi nimi se rozprostírají svazky fuchsinofilních kolagenních vláken. Vazivová tkáň je prostoupena sítí novotvořených krevních kapilár.

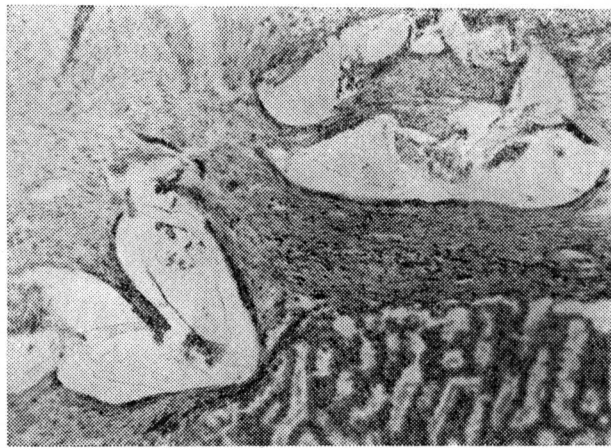
Během 1–6 měsíců probíhá další štěpení polymeru. Zároveň se mění složení granulační tkáně. Plně mizí polynukleární leukocyty a zmenšuje se množství lymfocytů. Kolem ostatních částí polymeru se shlukují obrovské mnohojaderné buňky typu z cizích těles. Drobné částičky polymeru se znázorňují při barvení Sudanem IV (obr. 1).

Určité nevýrazné změny nacházíme rovněž v parenchymu orgánů. V játrech, v intervalu od 6 hodin do 7 dnů, nacházíme v hepatocytech v blízkosti polymerního krytu dystrofické změny. Centrální vény a interlobulární kapiláry jsou rozšířeny a přeplněny krví. Za 14 dnů se stav jaterních buněk normalizuje a za 1 měsíc od operace nenacházíme odchylky od normy.

Histologické změny ledvin jsou charakteri-



Obr. 1. Polyuretanové lepidlo šest měsíců od aplikace má povrch orgánu. Drobné částice lepidla obklopené vazivem. Barveno Sudanem IV. Zvětšení negativu 400krát



Obr. 2. Výplň defektu v parenchymu ledviny třicátý den po operaci. Větší částice lepidla jsou obklopeny fibrózním vazivem. Zvětšení negativu 40krát. Barveno hematoxylinem a eozinem

zovány v časných obdobích překrvením glomerulů a dystrofickými změnami kanálků v koře. Za 1–2 měsíce se struktura ledviny normalizuje. Ve stěně tenkého a tlustého střeva a rovněž tak v kosterním svalu změny nenacházíme.

Ve druhé skupině při překrytí lineárních řezů ledvin polyuretanovým lepidlem KL-3 za 24 hodin po operaci nacházíme vyplnění centrální části rány masami lepidla a hemorrhagickým exsudátem. Okraje rány jsou pokryty tenkou vrstvou lepidla, přecházející v útvar vyplňující tvar rány a prostoupený polymorfními leukocyty. V částech ledvinového parenchymu přiléhajícího k operačnímu defektu nacházíme hemorrhagie a nekrotické změny. Epitelie ledvinových kanálků v zóně poranění jsou zduřelé, cévy jsou rozšířené a přeplněné krví.

Čtvrtý den se v ráně objevují makrofágy, se skupující se kolem částíček lepidla. V okraji rány nacházíme proliferaci fibroblastů. V ledvinovém parenchymu přiléhajícím k operační ráně nacházíme hemorrhagie, plasmorrhagie a nevýrazné známky nekrózy. Vzdálenější parenchym ledviny je bez viditelných změn.

Sedmý den od operace je charakterizován objevením se granulační tkáně, která od okraje rány začíná prorůstat mezi částice lepidla. Hemorrhagie a plasmorrhagie ještě nacházíme, ale jsou méně výrazné. Čtrnáctý den od operace probíhá další štěpení lepidla a jeho prorůstání vazivovou tkání. Kolem částic lepidla se objevují mnohobuněčné obrovské buňky typu z cizích těles. Ve vzdálenějším okolí částic lepidla je méně buněčná zralejší vazivová tkáň. Hemorrhagie a plasmorrhagie již nenacházíme, nekrotické části jsou nahrazeny vazivovou tkání. Ve vzdálenějším ledvinovém parenchymu nacházíme nahromadění lymfocytů.

Za 30 dnů od operace je operační defekt v ledvině překryt výrazně vazivově zesíleným pouzdem ledviny, ze kterého vychází klínovitá výplň operačního defektu v parenchymu

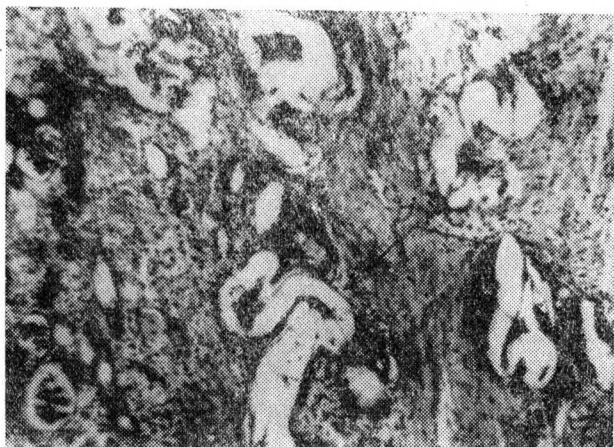


Obr. 3. Stejně jako obr. 2. Je patrné spojení odděleného parenchymu kory ledviny klínovitým ložiskem vaziva

ledviny. V této výplni nacházíme početné drobné i větší částičky lepidla. Ve střední části defektu je výplň tvořena počínajícími fibrocyty, uloženými v základní substanci s jemnými kolagenními vlákny, v okrajích defektu je tkáň méně buněčná s hrubšími kolagenními vlákny. Známky nekrotických změn již nenacházíme, defekty vzniklé v důsledku nekrozy jsou plně nahrazeny vazivem. Ve vzdálenějším ledvinovém parenchymu až na drobné okrsky lymfoplazmocytární celulózy nenacházíme patologické změny (obr. 2, 3).

Interval 2–6 měsíců je charakterizován dalším štěpením (rozpadem) lepidla a jeho prorůstáním vazivem (obr. 4). Parenchym ledviny v okolí je beze změn.

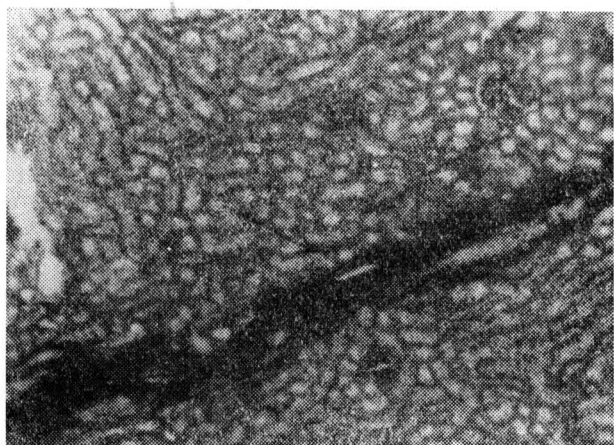
Za 1 rok od operace je operační defekt vyplněn úzkým pruhem vaziva s drobnými úlomky lepidla (obr. 5) a mnohobuněčnými obrovskými buňkami typu z cizích těles (obr. 6). Povrch ledviny je kryt v místě operační rány nově vytvořeným zesíleným vazivovým pouzdem, které uzavírá okraje rány a přechází v neporaněné pouzdro ledviny.



Obr. 4. Dva měsíce po operaci ledviny. Jednotlivé částice lepidla ve vazivové výplni operačního defektu. Barveno podle van Giesona. Zvětšení negativu 150krát



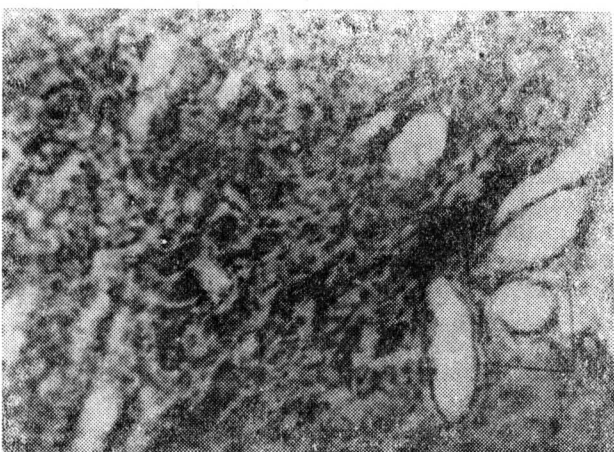
Obr. 7. Třicátý den po ošetření poranění jater pomocí lepidla. Ve vazivové výplni nacházíme jednak zbytky lepidla, jednak žlučové pakanálky. Barveno hematoxylinem a eozinem. Zvětšení negativu 40krát



Obr. 5. Rok po operaci ledviny. Tenký vazivový pruh v korové části. Barveno podle van Giesona. Zvětšení negativu 100krát



Obr. 8. Třicátý den od ošetření břišní stěny polyuretanovým lepidlem. Dvě vrstvy svalových vláken jsou spojeny vrstvou lepidla, kterou prorůstá fibrózní vazivo. Barveno hematoxylinem a eozinem. Zvětšení negativu 40krát



Obr. 6. Rok po operaci ledviny. Obrowské mnohоядерné buňky typu z cizích těles okolo zbytků lepidla. Barveno hematoxylinem a eozinem. Zvětšení negativu 200krát

V játrech nacházíme v intervalu 30 dnů od operace v místě operačního defektu zesílení pouzdra při okrajích defektu, defekt sám je

vyplněn vazivem, ve kterém nacházíme částičky polymeru různé velikosti. Ve vazivu nacházíme četné žlučové pakanálky. V úsecích, kde lepidlo překrylo povrch jater mimo operační ránu, jsou jeho částky obklopeny vazivem. V okolním játerním parenchymu až na drobné okrsy lymfoplazmocytní celulizace nenacházíme patologické změny (obr. 7).

Břišní stěna je v místě laparotomie a spojení pomocí lepidla KL-3 třicet dnů od operace kromě svalových vláken tvořena kolagenním vazivem, které obklopuje a částečně prorůstá poměrně souvislou vrstvou lepidla (obr. 8).

Diskuse

V obou sériích pokusů může být sledovaný polymerní kryt orgánů i polymerní výplň při jejich operačním poranění považovány za porézní implantát syntetického polymeru [3, 12].

Biologickou toleranci polyuretanů v pokusném organismu, včetně jejich odbourávání a toxicity vůči buněčným kulturám jsme sledovali v našich předchozích pracích. Pozorovali jsme dobrou snášenlivost v podkožní implantaci a nenacházeli jsme žádné projevy toxicity vůči buněčným kulturám (9).

Při implantaci porézních implantátů hydrofilních polymerů jak do podkoží, tak do peritoneální dutiny je popisována dobrá snášenlivost. V prvních dnech dochází k reaktivní celulizaci a exsudaci, skládající se převážně z polynukleárních leukocytů a serózního exsudátu, pronikající do nitra implantátu. Šestáho dne se kolem implantátu vytváří granulační tkáň, která se postupně mění ve vazivové pouzdro. Z granulační tkáně i cévnatého novotvořeného vaziva pronikají do implantátu novotvořené kapiláry, takže v druhém týdnu je v něm přítomna úzká zóna, obsahující novotvořené cévy, histiocyty, fibrocyty, početné polynukleární leukocyty a erytrocyty. Ve třetím týdnu celulizace ubývá, zóna tvorby cév v povrchních partiích je na různých místech různě široká. Čím je implantát poréznější, tím je jeho opouzdření slabší a zóna novotvořených cév a celulizace je širší. V pozdějších intervalech je u více porézních implantátů popisována v jejich okraji obrovskobuněčná reakce typu z cizích těles, v některých případech nacházíme v buňkách pohlčené částice polymeru (4, 10).

Z uvedených výsledků je zřejmé, že reakce pokusného organismu na kryt orgánů [ledviny, játer, tlustého a tenkého střeva, kosterního svalu] polymerním lepidlem na bázi polyuretanů, stejně tak histologický obraz reakce ledvinové a jaterní tkáně, spolu s hojením příčně pruhovaného svalu a prorůstáním implantátu polymerního tkáňového lepidla, je shodná s reakcí organismu na jiné porézní syntetické polymery lékařského určení. Je tedy tkáňové lepidlo na bázi polyuretanů metodou volby při ošetření různých poranění parenchymatózních orgánů. Jeho dobrá snášenlivost a jeho výhodné mechanické vlastnosti, stejně tak možnost regulace polymerizace jej předurčují zejména k ošetření orgánů, jejichž sutura je velmi obtížná (játra, ledviny), dále k překrytí velké plochy po resekcích (segmentární resekce plic) (6), stejně tak k ošetření např. cévních výdutí, zejména mozkových, jejichž sutura ani ligatura není možná. V těchto případech dojde ke zpevnění cévní stěny vazivem, pevně lnoucím ke stěně, které vyloučí další krvácení, na rozdíl od tuhých

akrylátových lepidel. Zejména v této aplikaci je zřejmá výhoda, že nedochází k polymerizaci při styku s tkáňovými tekutinami, jako je tomu u kyanoakrylátů (7). Jednou z dalších možností využití je uzavření bronchiální píštěle pomocí tkáňového lepidla, které je možno aplikovat pomocí cévky při bronchoskopii.

Souhrn

V práci je popsán nový typ tkáňového polymerního lepidla na bázi polyuretanů, syntetizovaného v Institutu chemie vysokomolekulárních sloučenin AN USSR v Kijevě. Sledována byla reakce pokusného organismu na polymerní kryt neporaněných orgánů, stejně jako ošetření parenchymatózních orgánů po chirurgickém poranění. Reakce organismu je srovnávána s reakcí na jiné porézní implantáty polymerních materiálů. Dále jsou uvedeny některé možnosti využití tohoto typu tkáňového lepidla v různých chirurgických oborech.

Literatura

1. Burděnko, G. V., Pchakadze, G. A.: Sravnitel'naja ocenka kleja MK-2 a KL-3. Kliničeskaja chirurgija, 4, 1971, s. 60–64.
2. Gechman, B. S., Malinovskij, P. A.: Primenenije medicinskovo kleja KL-3 dla skleivanija počky. Vojeno-med. žurnal, 3, 1971, s. 52.
3. Gubanov, A. G.: Alloplastika, Kijev, 1968, s. 83.
4. Kopeček, J., Šprinc, L.: Relationship between the structure and biocompatibility of hydrophilic gels. Polimery w medycynie, 4, 1974, s. 109–117.
5. Kovalev, M. M., Burděnko, G. V., Kebuladze, I. M., Tereščenko, L. T., Pchakadze, G. A.: O konservativnom lečeniji tolstokišečnych sviščej kleem KL-3 v eksperimente Polimery w medycynie, 3, 1973, s. 117–123.
6. Krákora, B.: Soukromé sdělení.
7. Malý, Z.: Soukromé sdělení.
8. Refojo, M. F.: Surgical Adhesives in Ophthalmology, J. Macromol. Sci.-Chem., A4, 1970, s. 667–674.
9. Šprinc, L., Kopeček, J., Kálal, J.: Biologičeskaja pereznosimost' poliuretanov. Report v rámci dvoustranné dohody o spolupráci mezi ČSAV a AN SSSR, 1973.
10. Šprinc, L., Kopeček, J., Lím, D.: Effect of Porosity Heterogenous Poly[Glycol Monomethacrylate] Gels on the Healing-In of Test Implants. J. Biomed. Mater. Res., 1971, s. 447–458.
11. Titarenko, V. I., Perechrestenko, P. M., Olefir, N. I.: Sborník: Sovremennye problemy ftiziatрії i serdečnoj chirurgii, Kijev, 1972, s. 139.
12. Zawilski, J., Perzyna, T., Majewski, C., Kalińska, D.: Badanie odczynu tkankowego na gabke poliuretanowa i winylowa wyrobu krajowego. Pol. Przegl. Chir., 39, 1967, s. 743–749.