

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОВМЕСТИМОСТИ ИМПЛАНТАТОВ

Т. А. Алексеева, С. П. Галич, И. В. Гомоляко, О. Н. Лазаренко, В. Н. Тиньков, П. М. Литвин, Д. Боровик, О. Береговая

Научно-профилактический центр практической и клинической медицины Государственного управления делами, Институт хирургии и трансплантологии имени А. А. Шалимова НАМН Украины, Институт металлофизики имени Г. В. Курдюмова НАН Украины, Институт физики полупроводников имени В. Е. Лашкарева НАН Украины, г. Киев

PHYSICAL METHODS TO DETERMINE OF IMPLANTS COMPATIBILITY

T. A. Alekseeva, S. P. Galich, I. V. Gomolyako, O. N. Lazarenko, V. N. Tihnkov, P. M. Litwin, D. Borovik, O. Beregovaya

В настоящее время спектр применения полимеров довольно широк, от сеток — для герниопластики, основы — для экспандеров, спейсеров — для оперативных вмешательств до шовного материала. Их объединяет устойчивость к химическому воздействию [1—4]. Они обладают существенным преимуществом по сравнению с металлами, поскольку их масса и прочностные характеристики близки к таковым живых тканей человека.

Кроме того, после установки полимерных имплантатов нет ограничений для проведения диагностики с использованием магниторезонансной томографии. К сожалению, структура полимеров в процессе их образования, а именно формирования макроцепи, имеет обрывы или незавершенные структуры, своего рода активные центры, которые могут вступать в реакции (рис. 1). Особенно это важно при оценке реак-

Реферат

Исследовано влияние живого организма на полимерные материалы, которые используют при изготовлении сеток для имплантатов. Показано, что организм реципиента активно воздействует на экзогенный материал, разрушая его поверхностный слой, и формирует вокруг имплантата изолирующую фиброзно-соединительнотканную капсулу, толщина которой зависит от выраженности реакции организма на инородное тело. Предложен инструментальный метод определения до операции совместимости материала имплантата с организмом реципиента с использованием атомно-силового микроскопа (АСМ).

Ключевые слова: имплантат; биосовместимость; реакция организма; атомно-силовой микроскоп.

Abstract

The effect of the living organism on the polymer materials used for the manufacture of grids for implants. It is shown that the recipient's body is actively working to exogenous material, destroying its surface layer and forms around the implant insulating fibro-connective tissue capsule, the thickness of which depends on the severity of the organism's reaction to a foreign body. Proposed instrumental method of determining compatibility before surgery implant material with the recipient using an atomic force microscope (AFM).

Key words: implant; biocompatibility; body reaction; the atomic force microscope.

ции организма на экзогенный материал.

После имплантации протезов выявляют активное действие организма на их поверхность, что обуславливает ее деструкцию. Биосовместимость материалов существенно зависит от характера такого действия. Предварительное тестирование совместимости материала имплантата и организма реципиента не проводили, практически не изучено влияние определенного организма на имплантат.

Целью работы было исследование медико-биологических аспектов поверхностных явлений при тестировании биосовместимости различных типов полимерных имплантатов. Определяли реакцию организма экспериментальных животных на различные полимерные

имплантаты с использованием АСМ в качестве биосенсора, а также путем биохимического анализа и гистологических исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полипропиленовые сетки для герниопластики. Экспериментальные исследования на животных проведены на базе вивария Национального института хирургии и трансплантологии имени А. А. Шалимова НАМН Украины.

У 12 кролей породы "серый великан" массой тела 2,5 — 3 кг под общей анестезией в передний отдел брюшной стенки установлены полипропиленовые сетки для герниопластики, которые предварительно замачивали в стерильном изотоническом растворе натрия хлорида.

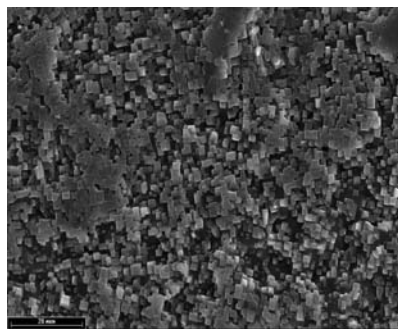


Рис. 1. Поверхность сегментированного полимера с примером незавершенной структуры.

Животных отсаживали в стандартные клетки по одному. Перед операцией внутримышечно вводили седативный препарат кетамин (2 мл/кг). Через 5 — 10 мин (в зависимости от начала действия премедикации) кролям вводили тиопентал—натрий в концентрации 15 мг/кг.

Материал тканевого экспандера (силикон). Эксперимент проведен на 10 белых лабораторных крысах массой тела 200 — 250 г.

Животным под общей анестезией с применением кетамина в концентрации 0,1 мг/кг в область спины устанавливали образцы тканевого экспандера размерами 8 × 8 × 1 мм.

Политетрафторэтилен (тефлон, ПТФЭ). Эксперимент проведен на 10 белых лабораторных крысах массой тела 200 — 250 г. Животным под общей анестезией с применением кетамина в концентрации 0,1 мг/кг в область спины устанавливали образцы ПТФЭ диаметром 5 мм, толщиной 1,2 мм.

Шовный материал полипропилен. Эксперимент проведен на 16 белых лабораторных крысах массой тела 200 — 250 г. Животным под общей анестезией с применением кетамина в концентрации 0,1 мг/кг на мышцы в области спины накладывали лигатуры шовным материалом полипропилен.

Животных выводили из эксперимента путем введения тиопентал—натрия до полного прекращения сердцебиения.

Через 8 нед (сетки для герниопластики) и 28 сут (силикон, тефлон, ПТФЭ, полипропилен) образцы полимеров иссекали из тканей, исследовали их поверхность с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ). Ткани вокруг имплантатов помещали в 10% раствор нейтрального формалина, гистологические препараты получали с использованием общепринятых методик.

Цифровая обработка изображения и морфометрия гистологических препаратов проведены с помощью микроскопа Olympus BX — 41 с оптикой Olympus UIS 2 и возмож-

ностью увеличения объектива в 125 раз с использованием программного обеспечения Olympus DP — Soft.

Все результаты исследований обработаны статистическими методами с помощью программ Microsoft® Office Excel 2003 и Statistica 7.0® (StatSoft, Inc. 1984 — 2006).

У животных перед операцией и в конце эксперимента забирали кровь для определения биохимических показателей: содержания глюкозы и С—реактивного протеина, а также получения из сыворотки крови суммарных IgG методом precipitation раствором аммония сульфата. IgG из раствора в концентрации 70 нг/мл наносили на острие зонда атомно—силового микроскопа (АСМ) для определения силы удержания поверхностью IgG [5, 6]. В исследовании использовали сканирующий зондовый микроскоп Dimension 3000 NanoScope IIIa (Veeco Inc.). Для измерения применяли контактные зонды Si3N4 марки DNP — 20 (Veeco Inc.) и V—подобный кантиливер. Для изучения поверхности имплантатов до и после нахождения в организме использовали СЭМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сетки для герниопластики. На рис. 2 представлены микрофото гистологических срезов тканей вокруг сетки через 8 нед после операции. По данным гистологических исследований, во всех наблюдениях

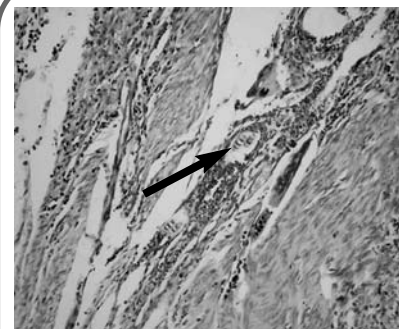


Рис. 2. Микрофото. Ткани вокруг сетки через 8 нед после операции. Ув. х 200. Стрелкой показан артефакт в гигантских клетках.

вокруг сетки отмечали достаточно большую фиброзно—соединительнотканную капсулу, толщина которой составляла в среднем (456 ± 93) мкм ($p < 0,005$). Капсула была неоднородной структуры, с кистами и признаками местного асептического воспаления в виде гигантских клеток. В некоторых наблюдениях в этих клетках обнаружены артефакты. Образование фиброзно—соединительнотканной капсулы вокруг имплантата с включениями инородного материала обусловлено тем, что поверхность сетки первой вступает в контакт с организмом, возникает каскад реакций клеточного и гуморального иммунитета. Наличие артефактов в гигантских клетках свидетельствует о разрушительном действии организма на синтетический материал.

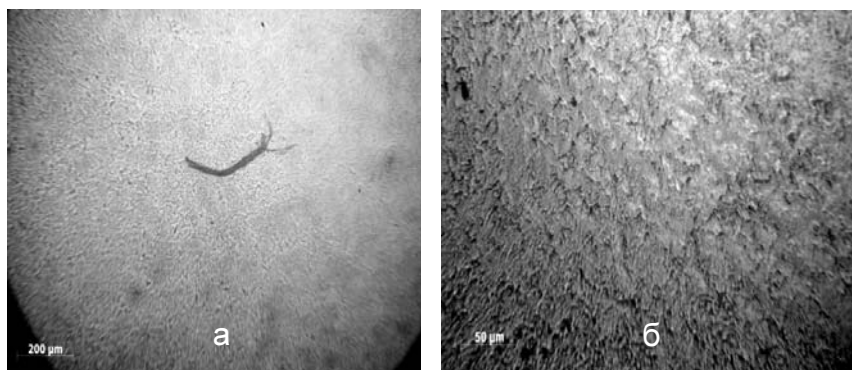


Рис. 3. Образцы внешней поверхности экспандера: а — исходная поверхность; б — после нахождения в течение 28 сут в организме крысы.

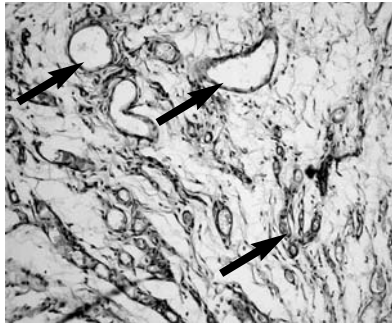


Рис. 4. Капсула вокруг экспандера, образовавшаяся через 28 сут пребывания в организме животного. Стрелками указаны остатки гигантских клеток с включениями Ув. х 200.

Тканевые экспандеры. На рис. 3 представлены примеры образцов внешней поверхности экспандера в исходном состоянии (а) и после нахождения в течение 28 сут в организме крысы (б). Внешняя поверхность экспандера значительно разрушена. Химический анализ включений, которые определяются в гигантских клетках, не проводили, од-

нако можно предположить, что они представляют собой частицы полимера, выбитые из его поверхности вследствие действия защитных механизмов организма животного.

Толщина капсулы вокруг имплантата неодинакова. Так, со стороны внешней поверхности экспандера, которая прилежала к мышцам животного, она значительно толще — (456 ± 68) мкм ($p < 0,005$), со стороны кожи — почти в 2 раза меньше — (289 ± 92) мкм ($p < 0,005$). В препаратах определяли кисты и остатки гигантских клеток с включениями (рис. 4).

Снейсеры из ПТФЭ. На рис. 5 представлена поверхность образцов ПТФЭ до и после их нахождения в организме. Организм оказывал разрушительное влияние, структура поверхности образца более изъедена. ПТФЭ — один из наиболее химически стойких полимерных материалов, обладающий гидрофобными свойствами, что считают преимуществом материалов медицинского назначения. Однако, результаты исследования свидетельствуют, что через 28 сут после

имплантации образцов ПТФЭ в организм животных вокруг них также образуется фиброзно-соединительнотканная капсула, толщина которой сопоставима с таковой капсулы, сформировавшейся вокруг образцов тканевого экспандера, и также неравномерна. Значительно более толстая капсула отмечена со стороны прилегания к мышцам животного, более тонкая — со стороны кожи — соответственно (387 ± 36) и (265 ± 36) мкм. Также в толще гистологических препаратов капсулы наблюдали кисты и инородные включения.

Анализ полученных данных позволяет предположить, что включения являются элементами ПТФЭ, образовавшимися вследствие воздействия на него организма животного.

Шовный материал. На рис. 6 представлены результаты действия организма на структуру шовного материала. По данным анализа поверхности шовного материала с использованием СЭМ, поверхность нитей подвергается существенному воздействию организма животного. После нахождения в организме поверхность образца усеяна лимфоцитами (нейтрофильными гранулоцитами), в самой нити отмечены значительные деструктивные изменения.

Все эти наблюдения подтверждены данными гистологических исследований. На рис. 7 отмечено разрушение нити и формирование капсулы со значительным воспалительным процессом.

По данным биохимических исследований крови экспериментальных животных, выявлено незначительное повышение уровня глюкозы (до 6,8 ммоль/л) — у кролей и 5,4 ммоль/л — у крыс. Уровень С-реактивного протеина повышен после выполнения операции, затем несколько снизился, но не достигал исходного, установлена его корреляция с выраженностью воспалительного процесса, обусловленного введением в организм экзогенного материала, а также толщиной сформировавшейся фиброзно-соединительнотканной капсулы.

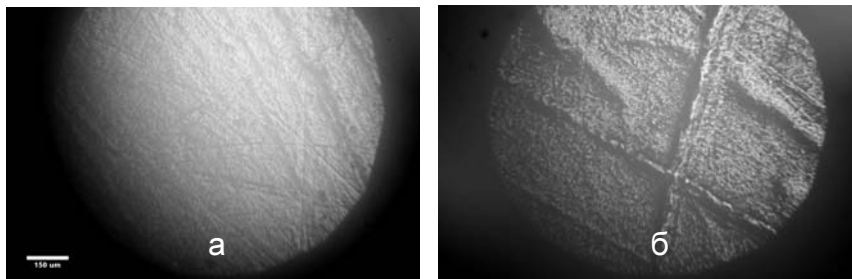


Рис. 5. Образцы поверхности ПТФЭ:
а — исходная поверхность;

б — после нахождения в течение 28 сут в организме экспериментального животного.

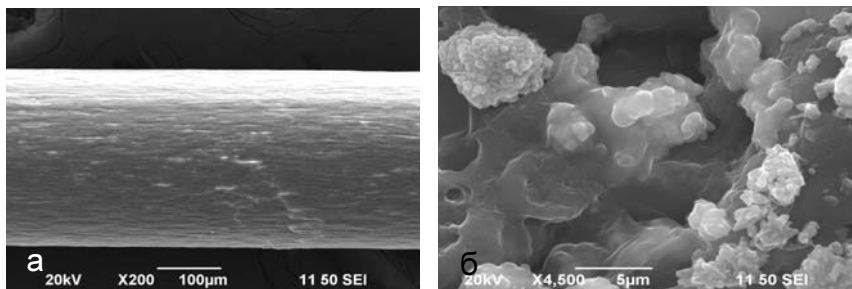


Рис. 6. Образцы поверхности нитей (полипропилен):
а — исходная поверхность;

б — после нахождения в течение 28 сут в организме крысы.

Для оценки совместимости материалов с организмом экспериментальных животных до операции проведены исследования с использованием АСМ [7].

В *таблице* представлены значения силы притяжения зонда (F_1/F_0) для различных животных и материалов. Поскольку условия определения совместимости материалов с организмом реципиента зависят от атмосферных явлений (влажность, температура воздуха в помещении), предпочтительно использовать не абсолютные значения силы удержания зонда поверхностью, а соотношение F_1/F_0 , где F_0 — сила, с которой исходный чистый зонд удерживается поверхностью; F_1 — сила, с которой поверхность удерживает зонд, модифицированный IgG реципиента. Таким образом, значение F_1/F_0 , меньше или равное 1 можно расценивать как совместимость данного материала с организмом реципиента; соотношение F_1/F_0 больше 1 свидетельствует, что при введении в организм имплантата возникнет локальное асептическое воспаление.

Данные таблицы свидетельствуют, что один и тот же материал в разных организмах (у разных видов животных) может вызвать различную реакцию. Во всех наблюдениях среднее значение F_1/F_0 было больше 1.

При сравнении результатов тестирования материалов на совместимость с организмом экспериментального животного до операции показано, что при соотношении F_1/F_0 , равном 1, реакция организма на чужеродное тело после имплантации минимальна, разрушение поверхности образца не происходило; при соотношении F_1/F_0 больше 1 реакция организма агрессивная, отмечали не только формирование толстой фиброзно—соединительнотканной капсулы, но и разрушение образца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лосев И. П. Химия синтетических полимеров / И. П. Лосев, Е. Б. Тростянская. — М., 1971.
2. Полимеры в медицине; под ред. Н. А. Платэ; пер. с англ. — М., 1969.
3. Полимеры медицинского назначения; под ред. С. Манабу; пер. с яп. — М., 1981.

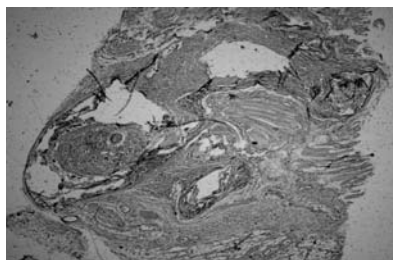


Рис. 7. Микрофото.
Ткани в месте нахождения шовного материала через 28 сут после наложения лигатуры.
Ув. x 200.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что реакция животных на один и тот же материал имплантата индивидуальна. При применении ПТФЭ у большинства животных, по результатам тестиро-

При отрицательных результатах необходимо провести медикаментозную подготовку пациента к операции или воспользоваться методикой обработки поверхности имплантата [8—10].

ВЫВОДЫ

1. В эксперименте установлено, что при применении любого экзогенного материала в организме возникает воспалительная реакция.
2. Выраженность реакции организма на инородное тело зависит от его иммунного статуса.
3. Вследствие реакции организма возможно разрушение поверхности имплантата, что обусловлено наличием на ней центров, которые распознаются IgG реципиента, что вызывает активацию гуморального и клеточного звеньев иммунитета.

Определение совместимости материалов с организмом экспериментальных животных до операции с помощью АСМ

Экспериментальное животное	Материал	Сила притяжения зонда F_1/F_0 ($\bar{x} \pm m$)
Кроли	Сетки для герниопластики (полипропилен)	$1,48 \pm 0,33$
Крысы	Тканевой экспандер (силикон)	—
Крысы	ПТФЭ	$1,36 \pm 0,35$
Крысы	Шовный материал (полипропилен)	$1,45 \pm 0,24$

вания до операции с помощью АСМ, отмечена повышенная реакция организма. Практически схожую ситуацию наблюдали при тестировании шовного материала и сеток для герниопластики.

Методика использования АСМ в контактном режиме с зондом и IgG позволяет до операции выявить на поверхности имплантата вероятные центры, которые могут активировать обе составляющие иммунной системы реципиента. Такой подход позволит подобрать для конкретного пациента имплантат из соответствующего материала.

4. При активации иммунной системы возникает локальный асептический воспалительный процесс, который реализуется в виде формирования толстой фиброзно—соединительнотканной капсулы, утраты функциональности имплантата, образования гигантских клеток, захвата ими полимерного материала.

5. Результаты экспериментального исследования свидетельствуют о перспективности использования АСМ для предварительного тестирования биосовместимости имплантатов.

4. Donohoe M. Women's Health in Context: Cosmetic Surgery Past, Present, and Future: Scope, Ethics, and Policy / M. Donohoe // Gyn & Women's Health. — 2006. — Vol. 11, N 2. — P.
5. Physicochemical properties and biocompatibility of polymer. Carbon Nanotubes Composites / Yu. I. Sementsov, G. P. Prikhod'ko, A. V. Melezhih [et al.] // Nanomaterials and Supramolecular Structures. — N. Y.: Springer, 2010. —

- Р. 347 — 368.
6. Изменение поверхности металлических имплантов с неорганическими покрытиями после нахождения в живом организме / Т. А. Алексеева, И. С. Ермоленко, С. П. Ошкадеров, О. Н. Лазаренко // *Металлофизика и новейшие технологии*. — 2009. — Т. 31, № 7. — С. 979 — 988.
 7. Puleo D. A.; Nanci, Understanding and controlling the bone—implant interface // *A. Biomaterials*. — 1999. — Vol. 20, N 23—24. — P. 2311 — 2321.
 8. Alekseyeva T. Substance enhancing biocompatibility of implants with recipient body and method of its preparation / T. Alekseyeva, O. Lazarenko // *Международная заявка РСТ UA2011/000045 Priority date 18.05.2011* — 8 с.
 9. Новые нанотехнологии в медицине Украины / Т. А. Алексеева, Н. П. Винниченко, С. П. Галич [и др.] // *Поліграфічна дільниця Інституту металофізики імені Г. В. Курдюмова НАН України*. — К., 2012. — 191 с.
 10. Клінічне застосування обробки поверхні імплантатів адаптувальною композицією для поліпшення їх біосумісних властивостей у відновлювальній хірургії: метод. рекомендації / О. М. Лазаренко, В. Й. Смержевський, С. П. Галич [та ін.]. — К.: Каравела, 2012. — 24 с.



НАУКОВО-МЕДИЧНЕ ВИДАВНИЦТВО “ЛІГА - ІНФОРМ”

Медичне видавництво «ЛІГА-ІНФОРМ» (м. Київ) запрошує до співпраці авторів медичної літератури.

Ми беремо на себе всі турботи про Вашу монографію: від редагування та створення оригінал-макету до поліграфічного виконання.

Видавництво, створене на базі журналу «Клінічна хірургія», допоможе видати книги з медицини, підручники, атласи, монографії.

Медичне видавництво «ЛІГА-ІНФОРМ» запрошує до взаємовигідної співпраці також фармацевтичні компанії, які займаються виробництвом, розповсюдженням і просуванням на ринок України лікарських засобів, медичного устаткування, компанії фармацевтичної промисловості (організації та представництва).



ТОВ «Ліга-Інформ», 03680, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30.
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру суб'єктів видавничої справи
ДК № 1678 від 04.02.04.