

## Анализ биосовместимости полимерных материалов для имплантатов

### Аннотация

Для исследования биосовместимости синтетических материалов медико-биологического назначения предложен способ имплантации образцов с использованием троакара. Преимуществами метода являются простота исполнения, снижение травматичности и частоты послеоперационных осложнений у экспериментальных животных. Кроме того, оптимизируется динамическое наблюдение ответной реакции экспериментальных животных *in vivo* без выведения их из эксперимента.

### Введение

Биосовместимость синтетических материалов является клинически актуальной проблемой и представляет интерес для научного сообщества, профессионалов разного профиля и для общества в целом [1].

В 1970 году был предложен алгоритм проведения исследований по определению безопасности клинического использования материалов: эксперименты *in vitro* с последующим изучением на животных, а затем клинические испытания с учетом этических норм и материальных возможностей [2]. Предполагалось, что на каждом этапе будут исключаться наиболее цитотоксичные материалы. Считалось, что исследования биосовместимости материалов *in vitro* позволяют получать всеобъемлющую информацию [3]-[5] и, кроме того, отличаются от исследований *in vivo* более высокой воспроизводимостью и скоростью проведения экспериментов, относительно низкой стоимостью и легкостью в определении контрольных групп [6]. Однако такие лабораторные методологии, которые были разработаны несколько десятилетий назад и продолжают применяться в настоящее время, вскоре стали подвергаться критике, так как результаты, полученные *in vitro*, часто расходятся с данными, наблюдаемыми у животных и людей [7]. Хотя использование животных для таких целей было и остается предметом дискуссий этического характера [8], [9], с их помощью можно получать более достоверные научные данные, чем *in vitro*. Однако результаты, полученные в этих тестах, могут зависеть от вида, возраста и пола животного, используемого в экспериментах [10], и не могут автоматически экстраполироваться на клинические ситуации у людей [7], [11], [12]. Еще одна трудность, связанная с использованием животных для исследования, заключается в определении адекватных контрольных групп. Тем не менее, результаты исследований на животных могут быть использованы для предварительной оценки безопасности новых биомедицинских материалов и вероятности их клинического успеха в конкретной функции [11].

Реакция организма на имплантат определяется в основном его поверхностными свойствами: химическим составом, структурой и морфологией [13], [14]. Существующие методы и подходы, нацеленные на повышение биосовместимости полимерных материалов, в том числе полиуретанов, можно подразделить на три основных направления. Первое связано с изменением структуры самой макромолекулы во время полимеризации, т. е. с получением привитых сополимеров [15]. Другим направлением модификации полиуретана является введение наночастиц, например оксида кремния [16]. Наконец, наиболее целесообразной является модификация поверхности изделия физическими и химическими методами. Следует отметить, что вид полимера, т. е. надмолекулярная структура и физико-механические характеристики, определяется его конкретным назначением. Однако стратегия получения биосовместимой поверхности схожа для всех типов имплантируемых материалов – это в основном повышение гидрофильности и иммобилизация соединений биологического происхождения [17], [18].

В рассматриваемой работе исследовалась биосовместимость двух образцов полиуретана, модифицированных хими-

ческими реагентами в растворе, в одном случае после предварительного активирования поверхности пучком ускоренных ионов.

Фундаментальные аспекты, отражающие тканевые реакции на внедрение чужеродных материалов и устройств, представлены в обзоре [19], где впервые такие реакции рассматриваются как континуум отклика ткани, включающий в себя травму, процессы воспаления и ранозаживления, реакции на инородное тело и его фиброзную инкапсуляцию (рис. 1).



Рис. 1. Временная вариация острого и хронического воспалительного ответа, развития грануляционной ткани и реакции инородного тела на имплантацию [19]

За последние два десятилетия представления, изложенные в обзоре, были подтверждены и развиты в ряде исследований [13], [20], [21].

Среди биополимеров, применяемых для создания имплантатов, особое место занимают полиуретаны, которые активно изучают в качестве материала для хирургии и тканевой инженерии [22]-[24]. Целью данного исследования являлась разработка и апробирование нового способа имплантации полиуретановых образцов для оптимизации изучения ответной реакции организма и стадийности интеграции в ткани в эксперименте на крысах.

### Материалы и методы

Нами предложен и апробирован метод [25], при реализации которого для имплантации исследуемых образцов экспериментальным животным используют троакар полостной Т-3 («Surgiwell», Пакистан), предназначенный для прокола грудной или брюшной стенки с целью выведения жидкости из по-

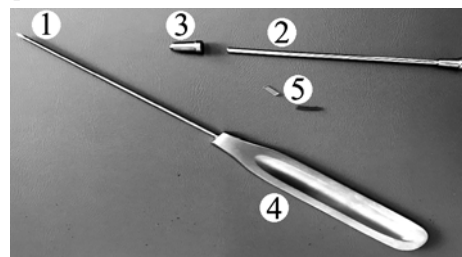


Рис. 2. Устройство троакара, используемого для имплантации опытных образцов полимерных материалов: 1 – игла; 2 – трубка; 3 – крышка; 4 – держатель; 5 – исследуемые образцы

лостей тела человека. Хирургический инструмент представляет собой полую стальную трехгранную иглу диаметром 3,3 мм с надеваемой на нее трубкой (рис. 2).

Экспериментальные образцы полимера медико-биологического назначения изготавливают в виде шнуров произвольной длины диаметром  $\leq 3$  мм, которые при проведении эксперимента нарезают на фрагменты равной длины (по 5, 10, 15 мм). Фрагменты шнура погружают в склянки с физиологическим раствором и стерилизуют в автоклаве при  $120^\circ\text{C}$  и избыточном давлении в 1 атм в течение 20 мин, а затем, с соблюдением правил асептики, помещают в трубку троакара. Животным под общим кратковременным (5...10 мин) ингаляционным эфирным наркозом в условиях чистой операционной с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» с помощью троакара осуществляют имплантацию стерильного образца в брюшную полость либо в другую область (подкожно, в мышечную ткань и т. п.), выбранную в соответствии с планируемым применением изучаемого биополимерного материала. Экспериментальные животные могут находиться под наблюдением в течение длительного времени (от 2 до 12 недель и более).

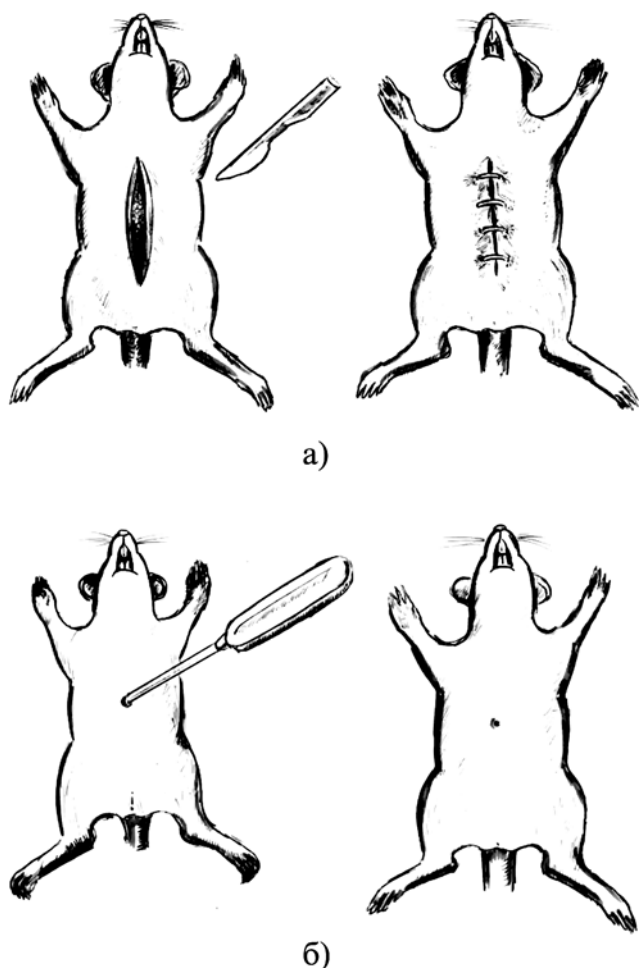


Рис. 3. Имплантация опытных образцов полиуретана посредством хирургического вмешательства (а) и использования оригинальной методики (б)

В одном из экспериментов образцы из полиуретана в виде шнура диаметром 3 мм, разделенные на одинаковые по длине фрагменты, имплантировали с помощью троакара пяти лабораторным беспородным белым крысам-самцам массой 180...200 г (рис. 3).

В отличие от процедуры имплантации посредством оперативного вмешательства (рис. 3а) использование предлагаемого нами способа (рис. 3б) значительно минимизировало трав-

матизацию животных и время, затрачиваемое на вживление образца. При этом пункционное отверстие полностью затягивалось без дополнительных манипуляций в течение первых 3...5 ч, в то время как хирургическую рану приходилось ушивать, а ее неосложненное заживление все время было под угрозой, поскольку крысы постоянно дополнительно травмировали поврежденную зону.

Дальнейший отбор перитонеальной жидкости для динамического наблюдения клеточных и гуморальных реакций проводили также с использованием троакара на протяжении 60 суток после имплантации, но не чаще, чем один раз в неделю. Инкубация завершилась вскрытием животных с извлечением образцов, доступных для дополнительного изучения, а также фрагментов брюшной стенки, пейеровых бляшек, печени, селезенки, лимфатических узлов для окончательной оценки биосовместимости полимерного материала (рис. 4).

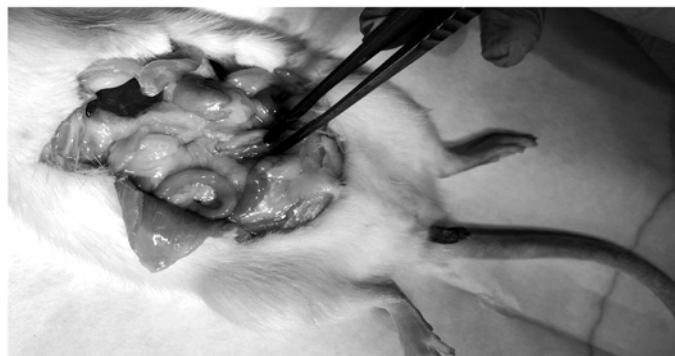


Рис. 4. Вскрытие экспериментального животного для взятия биоптатов и изъятия опытного образца для дальнейших исследований

## Результаты

Введение чужеродного материала в организм – это сложная хирургическая операция, зачастую сопровождающаяся значительным нарушением живой ткани, вызывающим ряд местных и общих изменений, приводящих либо к биосовместимости имплантата с тканями организма, либо к его отторжению или биодеструкции [25]. Любые материалы, предназначенные для изготовления имплантатов, в том числе и полимерные, должны проходить проверку на биосовместимость, однако последствия тяжелой хирургической травмы, влияние продолжительного действия наркоза на животных могут в значительной степени исказить результаты этого теста [16]. Динамическое наблюдение возможно только при формировании нескольких групп животных, поскольку забор материала для исследования, как правило, производят при вскрытии, что предполагает выведение лабораторных животных из эксперимента.

Использование троакара не только снижает травмирующий эффект и минимизирует влияние наркоза, но и позволяет забирать тканевые жидкости для исследования на протяжении всего периода наблюдения, давая возможность в динамике отслеживать как местную, так и системную реакцию в организме модели.

## Заключение

Таким образом, предлагаемый способ имплантации образцов синтетических материалов медико-биологического назначения при исследовании их биосовместимости прост в исполнении, малотравматичен для экспериментальных животных, как правило, не вызывает осложнений, оптимизирует динамическое наблюдение ответной реакции экспериментальных животных *in vivo* без выведения их из эксперимента.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-43-590904р\_а).*

Список литературы:

1. Schmalz G. Materials science: Biological aspects // J. Dent. Res. 2002. № 10. Vol. 81. PP. 660-663.
2. Autian J. The use of rabbit implants and tissue culture tests for the evaluation of dental materials // Int. Dent. J. 1970. № 20. PP. 481-490.
3. Hanks C.T., Wataha J.C., Sun Z. In vitro models of biocompatibility // Dent. Mater. 1996. № 12. PP. 186-192.
4. Tang L., Jennings T.A., Eaton J.W. Mast cells mediate acute inflammatory responses to implanted biomaterials // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. PP. 8841-8846.
5. Zdolsek J., Eaton J.W., Tang L. Histamine release and fibrinogen adsorption mediate acute inflammatory responses to biomaterial implants in humans // J. Transl. Med. 2007. Vol. 5. PP. 31-36.
6. Anderson J.M., Rodriguez A., Chang D.T. Foreign body reaction to Biomaterials // Semin. Immunol. 2008. Vol. 20. PP. 86-100.
7. Rajesh P., Verma S., Verma V., Balani K., Agarwal A., Narayan R. Host response of implanted biomaterials / In Biosurfaces: A Materials Science and Engineering Perspective. – USA: Wiley, 2015. PP. 106-125.
8. Bayne S.C. Correlation of clinical performance with «in vitro tests» of restorative dental materials that use polymer-based matrices // Dent. Mater. 2012. Vol. 28. № 1. PP. 52-71.
9. Das A., Sinha M., Datta S., Abas M., Chaffee S., Sen C.K., Roy S. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration // Am. J. Pathol. 2015. Vol. 185. № 10. PP. 2596-2606.
10. Tarique A.A., Logan J., Thomas E., Holt P.G., Sly P.D., Fantino E. Phenotypic, functional and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 2015. Vol. 53. № 5. PP. 676-688.
11. Loke P., Gallagher I., Nair M.G., Zang X., Brombache F., Mohrs M., Allison J.P., Allen J.E. Alternative activation is an innate response to injury that requires cd4+ t cells to be sustained during chronic infection // J. Immunol. 2007. Vol. 179. № 6. PP. 3926-3936.
12. Bernard M., Jubeli E., Pungente M.D., Yagoubi N. Biocompatibility of polymer-based biomaterials and medical devices – regulations, in vitro screening and risk-management // Biomater. Sci. 2018. Vol. 6. № 8. PP. 2025-2053.
13. Биосовместимость / Под ред. В.И. Севастьянова. – М.: ИЦ ВНИИ геосистем, 1999. 368 с.
14. Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering / Ed. by Hench L., Jones J. – Woodhead Publishing, 2005. 304 p.
15. Mo F., Ren H., Chen S., Ge Z. Novel zwitterionic polyurethanes with good biocompatibility and antibacterial activity // Mater. Lett. 2015. Vol. 145. PP. 174-176.
16. Rashti A., Yahyaei H., Firoozi S., Ramezani S., Rahiminejad A., Karimi R., Farzaneh K., Mohseni M., Ghanbari H. Development of novel biocompatible hybrid nanocomposites based on polyurethane-silica prepared by sol gel process // Mater. Sci. Eng. C. 2016. Vol. 69. PP. 1248-1255.
17. Goddard J.M., Hotchkiss J.H. Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds // Prog. Polym. Sci. 2007. Vol. 32. PP. 698-725.
18. Ma Z., Mao Z., Gao C. Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering // Colloids Surf. B: Biointerfaces. 2007. Vol. 60. PP. 137-157.
19. Anderson J.M. Biological responses to materials // Ann. Rev. Mater. Res. 2001. Vol. 31. PP. 81-110.
20. Schmalz G., Galler K.M. Biocompatibility of biomaterials – lessons learned and considerations for the design of novel materials // Dent. Mater. 2017. Vol. 33. № 4. PP. 382-393.
21. Kelly M., Macdougall K., Olabisi O., McGuire N. In vivo response to polypropylene following implantation in animal models: A review of biocompatibility // Int. Urogynecol. J. 2017. Vol. 28. № 2. PP. 171-180.
22. Coskun S., Korkusuz F., Hasirci V. Hydroxyapatite reinforced poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) based degradable composite bone plate // J. Biomat. Sci. Polym. Ed. 2005. Vol. 16. № 12. PP. 1485-1502.
23. Shishatskaya E.I., Voinova O.N., Goreva A.V. et al. Biocompatibility of polyhydroxybutyrate microspheres: In vitro and in vivo evaluation // J. Mater. Sci. Mater. Med. 2008. Vol. 19. № 6. PP. 2493-2502.
24. Sudesh K. Microbial polyhydroxyalkanoates (PHAs): An emerging biomaterial for tissue engineering and therapeutic applications // Med. J. Malaysia. 2004. Vol. 59. Suppl. B. PP. 55-66.
25. Карпунина Т.И., Годовалов А.П. Способ имплантации образцов синтетических материалов медико-биологического назначения при исследовании их биосовместимости / Приоритетная справка на патент № 2016134726. ФИПС. Отд. № 17.

Тамара Исаковна Карпунина,  
д-р биол. наук, профессор,  
кафедра микробиологии и вирусологии,  
Анатолий Петрович Годовалов,  
канд. мед. наук, доцент,  
кафедра микробиологии и вирусологии,  
ведущий научный сотрудник,  
Центральная научно-  
исследовательская лаборатория,  
ФГБОУ ВО «Пермский государственный  
медицинский университет  
им. акад. Е.А. Вагнера»  
Минздрава России,  
Дина Эдуардовна Якушева,  
канд. техн. наук, научный сотрудник,  
лаборатория структурно-химической  
модификации полимеров,  
Институт технической  
химии Уральского отделения РАН –  
филиал ФГБУН «Пермский федеральный  
исследовательский центр  
Уральского отделения РАН»,  
г. Пермь,  
e-mail: AGodovalov@gmail.com

\* \* \* \* \*