

Дисперсия – 0,54.

Среднее значение коэффициента удлинения – 0,37.

Таким образом, у данного больного отмечено значительное ухудшение всех параметров деформируемости эритроцитов в период ожоговой токсемии. Наиболее значимым является снижение количества наиболее удлиненных (деформированных) эритроцитов, что отражается и на показателе дисперсии. Отметим, что это невозможно оценить с использованием существующих способов измерения деформируемости эритроцитов. Важное значение имеют данные, полученные при выписке больного. Удалось выяснить, что в этом случае при выписке больного остаются значимыми данные о сниженной деформируемости эритроцитов даже после проведенного лечения, при полностью закрытых ожоговых ранах. Нарушенная деформируемость эритроцитов при выписке может являться причиной анемии, нарушения микроциркуляции, а отсюда – сохранения органной недостаточности.

Безусловно, у рассматриваемого алгоритма имеется перспектива практического использования в клинической медицинской практике. Уже в настоящее время он применяется в исследовании на тему «Реологические свойства крови у детей с воспалительными заболеваниями кишечника» и в работе «Реологические свойства крови при острой и хронической гипоксии». Приведем пример его использования при острой гипоксии.

Заключение

Предложенный способ позволяет провести анализ количественных характеристик деформируемости эритроцитов, что позволяет значительно повысить точность метода и получить дополнительную информацию о процессе деформируемости красных клеток крови. Это имеет не только важное практическое значение, так как позволяет оценить особенности патогенеза заболевания, эффективность лечения, но и важное научное значение. Конечной целью познания ключевых универсальных механизмов повреждения мембран клеток (которую характеризует деформируемость эритроцитов) может явиться разработка патогенетически обоснованной стратегии восстановления функциональных свойств клеток при патологии.

Список литературы:

1. *Dobbe J.G.G., Hardeman M.R., Streekstra G.J., Starckee J., Ince C., Grimbergen C.A.* Analyzing red blood cell-deformability distributions // *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2002. Vol. 28. № 3. PP. 373-384.
2. *Bessis M., Mohandas N.* A diffractometric method for the measurement of cellular deformability // *Blood cells*. 1975. Vol. 2. № 1. PP. 307-313.
3. *Левин Г.Я., Яхно В.Г., Царевский Н.Н., Котяева Н.П.* Устройство для деформации эритроцитов в сдвиговом потоке / А. с. 1363065. Опубликовано 30.12.1987 г. Бюл. № 48.
4. *Левин Г.Я., Царевский Н.Н., Котяева Н.П.* Способ определения деформируемости эритроцитов / А. с. 1377111. Опубликовано 29.02.1988. Бюл. № 8.
5. *Bradley D., Roth G.* Adapting Thresholding Using the Integral Image // *Journal of Graphics Tools*. 2007. Vol. 12. №. 2. PP. 13-21.
6. *Margalit D., Rabinoff J.* Interactive Linear Algebra. – Georgia Institute of Technology, 2017. P. 430.

*Григорий Яковлевич Левин,
д-р мед. наук, профессор, руководитель,
отделение гравитационной хирургии и гемодиализа,
ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский
медицинский университет» Минздрава России,
Полина Анатольевна Шагалова,
ст. преподаватель,
Элеонора Станиславовна Соколова,
д-р техн. наук, профессор, зав. кафедрой,
кафедра «Информатика и системы управления»,
Нижегородский государственный технический
университет им. Р.Е. Алексеева,
Александра Николаевна Поповичева,
мл. научный сотрудник,
отделение гравитационной хирургии и гемодиализа,
ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский
медицинский университет» Минздрава России,
г. Н.-Новгород,
e-mail: polli-shagalova@yandex.ru*

*В.С. Чудинов, И.В. Кондюрина, В.Н. Терпугов, И.Н. Шардаков,
В.В. Маслова, С.Ю. Солодников, И.В. Фефилова, А.В. Кондюрин*

Плазменно-ионная обработка полиуретановых имплантатов для уменьшения реакции отторжения организма

Аннотация

Полиуретан медицинского назначения на основе СКУ-ПФЛ обработан ионами азота с энергией 20 кэВ и имплантирован в организм крыс. После одного месяца образцы тканей с имплантированным полиуретаном извлекали и проводили гистологический анализ. Статистически показано, что толщина капсулы, которая образуется как результат реакции организма на инородное тело, значительно меньше для обработанных образцов полиуретана.

Введение

Плазменно-ионная обработка полиуретановых имплантатов позволила активировать их поверхность до появления карбонизованных областей, содержащих конденсированные ароматические структуры с неспаренным электроном при атоме углерода на краю ароматического кластера [1]. Ранее было показано, что такой углеродный атом способен обеспечить ковалентную связь с молекулой белка, адсорбированной на поверхности полиуретанового имплантата [2]. Высокая поверхностная энергия обработанного полиуретана и, в частности, высокая полярная компонента поверхностной энергии обеспечили адсорбцию воды на поверхности имплантата и полярные межмолекулярные взаимодействия молекулы белка с по-

верхностью обработанного полиуретана [3]. В результате такого взаимодействия конформация белка и его биологическая активность сохраняются при адсорбции белка на поверхности обработанного полиуретана. Это подтверждается высокой адгезией и высокой степенью пролиферации клеток из клеточных культур в экспериментах *in vitro* [4]. В данной статье представлены результаты по вживлению таких обработанных полиуретановых имплантатов в организм лабораторных животных.

Материалы и методы

Синтез медицинского полиуретана СКУ-ПФЛ проводился по методике, описанной в работе [5]. Полученные пленки полиуретана обрабатывались ионами азота с энергией 20 кэВ с

разными временами обработки: 40, 80, 400 и 800 с, что соответствовало флюенсам 5×10^{14} , 1×10^{15} , 5×10^{15} и 1×10^{16} ионов азота на квадратный сантиметр. Модификация поверхности пленок ионами азота проводилась на установке плазменно-иммерсионной обработки, описанной ранее в работе [6]. После обработки образцы полиуретана транспортировались из Сиднея (Австралия) в Пермь (Россия) и имплантировались в организм лабораторных животных – сертифицированных крыс линии SD. Хирургические операции проводились под общим наркозом «Золетил 50», образцы помещались подкожно в область спины. Были прооперированы 3 животных. Всего было имплантировано 15 образцов полиуретана. Производилось по 5 надразов в каждом животном для имплантации 1 необработанного контрольного и 4 образцов полиуретана, обработанных с разным флюенсом ионов. Рана ушивалась шовным материалом «Викрил 4/0», накладывался один шов на один разрез. Животные наблюдались постоянно, согласно протоколу мониторинга состояния лабораторных животных после операции, в течение месяца. Эксперименты на животных проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях.

После одного месяца наблюдения проводили эвтаназию животных с использованием углекислого газа. Образцы полиуретана извлекали вместе с окружающими тканями, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, изготавливали срезы на микротоме, которые размещали на предметных стеклах и окрашивались гематоксилином и эозином согласно стандартной методике [7]. Подготовленные гистологические препараты фотографировали на цифровом оптическом 3D-микроскопе «Nігох КН-7700» с высоким и низким разрешением. Полученные микрофотографии анализировали, толщину капсулы определяли по нескольким точкам в разных местах образца. Всего было проанализировано 100 срезов. С каждого среза было сделано от 10 до 20 микрофотографий в зависимости от качества и размера среза.

Результаты

Капсула около имплантатов была образована коллагеновыми волокнами с присутствием фибробластов, макрофагов и нейтрофилов. Гигантских клеток и некроза тканей около имплантатов не было обнаружено, что соответствует умеренной реакции организма на внедрение инородного тела. Однако толщина капсулы заметно отличалась в зависимости от метода подготовки поверхности (рис. 1). В случае имплантата, обработанного плазмой, толщина капсулы была намного меньше по сравнению с капсулой около необработанного имплантата. Наиболее выраженная разница в толщине капсулы наблюдалась для имплантата, обработанного в течение 400 с, что соответствует ионному флюенсу 5×10^{15} ионов на квадратный сантиметр. В некоторых местах толщина капсулы соответствовала размеру одной клетки около поверхности такого имплантата.

Статистический анализ толщины капсулы показал, что наблюдается статистически подтвержденная разница в толщине капсулы около обработанных и необработанных имплантатов. Первичный анализ был сделан отдельно для каждого

животного с целью учета индивидуальной активности иммунной системы. Разброс толщины капсулы у первого животного около необработанного имплантата наблюдался от 70 до 270 мкм. Разброс толщины капсулы около обработанных имплантатов лежал в области более низких значений: от 60 до 130 мкм (40 с обработки), от 5 до 80 мкм (400 с обработки) и от 20 до 110 мкм (800 с обработки). Для образца, обработанного в плазме в течение 80 с, толщина оболочки в разных местах колебалась от 16 до 240 мкм. Значения толщины капсулы, усредненные по всем 3 животным, лежат несколько ниже значений для этого животного. То есть данное животное характеризуется высокой иммунной активностью.

Разброс толщины капсулы у второго животного около необработанного имплантата наблюдался от 50 до 90 мкм, что намного ниже усредненных по всем животным значений. То есть иммунная система данного животного характеризуется низкой активностью. Разброс толщины капсулы около обработанных имплантатов в среднем лежал в той же области значений: от 5 до 140 мкм (40 с обработки), от 5 до 80 мкм (400 с обработки) и от 20 до 140 мкм (800 с обработки). При этом если верхняя граница разброса для обработанных имплантатов была выше или близка к верхней границе для необработанных имплантатов, то низкая граница для обработанных имплантатов была намного ниже, чем для необработанных имплантатов. Несмотря на то что иммунная система данного животного обладает пониженной активностью, значения толщины капсулы около обработанных имплантатов для данного животного примерно соответствуют усредненным значениям для всех животных.

Разброс толщины капсулы у третьего животного около необработанного имплантата наблюдался от 90 до 210 мкм, что соответствует усредненным по всем животным значениям. То есть иммунная система данного животного характеризуется средней активностью. Разброс толщины капсулы около обработанных имплантатов в среднем лежал в области значений от 5 до 190 мкм (40 с обработки), от 30 до 130 мкм (80 с обработки), от 10 до 80 мкм (400 с обработки) и от 30 до 200 мкм (800 с обработки).

Усреднение толщины капсулы по всем трем животным дает также более низкие значения для обработанных имплантатов по сравнению с толщиной капсулы для необработанных имплантатов. Для статистического анализа приведены гистограммы распределения толщины капсулы, встречающиеся около необработанных и обработанных имплантатов (рис. 2). Предполагая нормальный закон распределения вероятности толщины капсулы около имплантата, гистограммы аппроксимированы функциями Гаусса. Оптимизация параметров сделана модифицированным методом Ньютона. Результаты приведены в табл. 1. Указаны амплитуда наблюдения величин, наиболее вероятная толщина капсулы и полуширина функции.

Как видно из приведенных данных, толщина капсулы значительно меньше в случае имплантации обработанных полиуретановых образцов. Наименьшая ожидаемая толщина капсулы 14 мкм наблюдается в случае имплантата, обработанного 400 с в плазме. Эта величина значительно меньше толщины капсулы, наблюдаемой в случае необработанного имплантата, которая составляет 117 мкм.

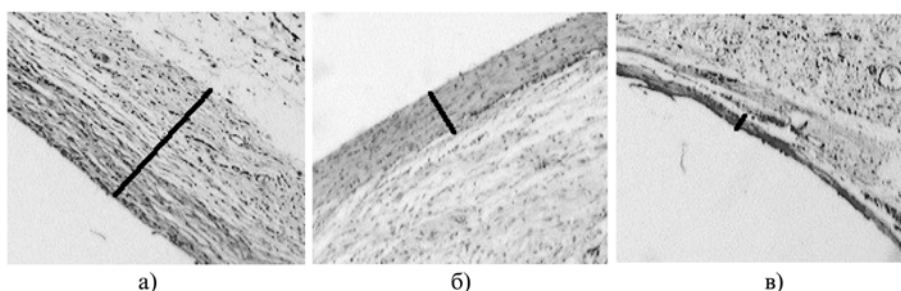


Рис. 1. Микрофотографии тканей около имплантатов: а) необработанный; б) обработанный в течение 40 с; в) обработанный в течение 400 с. Пустое пространство – местоположение имплантата. Линия показывает толщину капсулы. Размер каждого изображения – 300 × 510 мкм

Другой метод статистического анализа толщины капсулы выполнен на основе p -критерия. Данный метод широко используется в биологических и медицинских исследованиях. При этом значение $p < 0,05$ принимается как граница достоверности гипотезы. Результаты анализа толщины капсулы, проведенного по гистологическим измерениям, показали, что различие капсулы для необработанного имплантата и капсул для имплантатов, обработанных в течение 40, 400 и 800 с, является достоверным ($p < 0,01$), тогда как различие капсулы для необработанного имплантата и имплантата, обработанного в течение 80 с, является несущественным ($p > 0,1$).

Таблица 1

Параметры функций Гаусса, аппроксимирующие гистограммы наблюдений толщины капсулы около полиуретановых имплантатов

Время обработки, с	0	40	80	400	800
Амплитуда	0,094	0,105	0,106	0,150	0,152
Толщина, мкм	117	62	89	14	66
Полуширина, мкм	57	54	45	56	34

Выводы

По результатам гистологических исследований установлено, что плазменно-ионная обработка полиуретана медицинского назначения значительно уменьшает реакцию организма на инородное тело и приводит к формированию капсулы, изолирующей имплантат, которая значительно тоньше по сравнению с капсулой, формируемой около необработанного имплантата.

Данные исследования были поддержаны финансированием в рамках государственного задания ИМСС УрО РАН и субсидии (гранта) Пермского края (соглашение № С-26/057 от 11 марта 2016 г.).

Список литературы:

1. *Оджаев В.Б., Козлов И.П., Попок В.Н., Свиридов Д.Б.* Ионная имплантация полимеров. – Минск: Белорусский госуниверситет, 1989.
2. *Kondyurin A., Maitz M.F.* Surface Modification of ePTFE and Implants using the same / US patent WO 2007/022174 A3, 2007.
3. *Кондюрина И.В., Чудинов В.С., Терпугов В.Н., Кондюрин А.В.* Химическая пришивка альбумина на поверхность полиуретанового имплантата, модифицированного ионным пучком // Медицинская техника. 2018. № 4. С. 19-21.
4. *Чудинов В.С., Кондюрина И.В., Шардаков И.Н., Свистков А.Л., Осоргина И.В., Кондюрин А.В.* Полиуретан для медицинского применения, модифицированный плазменно-ионной обработкой // Биофизика. 2018. Т. 63. Вып. 3. С. 444-454.
5. *Осоргина И.В., Бегиев В.П., Кондюрин А.В., Плаксин С.А.* Маммапротезы с полиуретановой оболочкой // Пластические массы. 1997. С. 26-29.

6. *Anders A. (ed.) Handbook of Plasma Immersion Ion Implantation and Deposition.* – Wiley-Interscience, 2000.
7. *Семченко В.В., Барашковая С.А., Ноздрин В.Н., Артемьев В.Н.* Гистологическая техника / Учебное пособие. 3-е изд., перераб. и доп. – Омск-Орел: Омская областная типография, 2006. 290 с.

Вячеслав Сергеевич Чудинов, м.л. научный сотрудник, Институт механики сплошных сред Уральского отделения РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения РАН, г. Пермь, Ирина Викторовна Кондюрина, аспирант, Школа медицины, Университет Сидней, Сидней, Австралия, Виктор Николаевич Терпугов, канд. техн. наук, доцент, кафедра механики сплошных сред и вычислительных технологий, ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Игорь Николаевич Шардаков, д-р физ.-мат. наук, зав. лабораторией, лаборатория интеллектуального мониторинга, «Институт механики сплошных сред Уральского отделения РАН» – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения РАН, Вера Владимировна Маслова, канд. ветеринар. наук, инженер-исследователь, Сергей Юрьевич Солодников, канд. мед. наук, ст. научный сотрудник, Ирина Вячеславовна Фефилова, ведущий инженер-исследователь, Научно-образовательный центр прикладных химических и биологических исследований, Пермский национальный исследовательский политехнический университет, г. Пермь, Алексей Викторович Кондюрин, канд. техн. наук, сеньор исследователь, школа физики, Университет Сидней, Сидней, Австралия, e-mail: chudinovsl@mail.ru

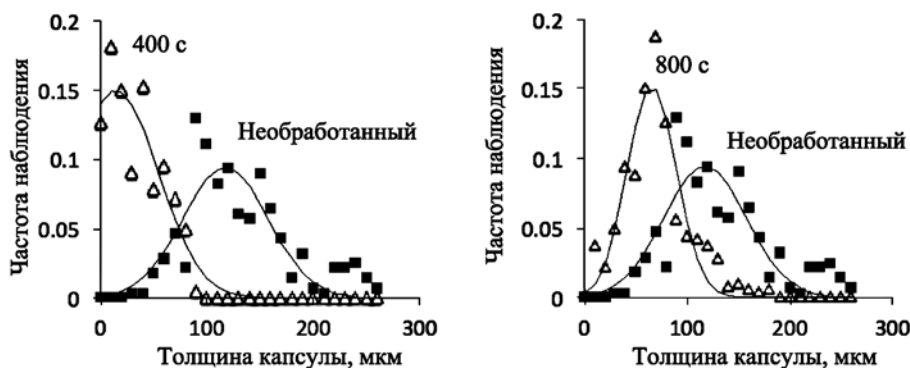


Рис. 2. Гистограмма частоты наблюдения толщины капсулы около необработанного имплантата и около имплантата, обработанного в течение 400 и 800 с. Гистограмма аппроксимирована функцией Гаусса