УДК 616-77; 616-002.1

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ ХИРУРГИЧЕСКИХ ИМПЛАНТАТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ПЛАСТИКИ ПЕРЕДНЕЙ БРЮШНОЙ СТЕНКИ

Ярош А.Л., Должиков А.А., Солошенко А.В., Колпаков А.Я., Битенская Е.П., Молчанова А.С., Герасименко Д.В.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, e-mail: yarosh_a@bsu.edu.ru

Впервые представлены результаты исследований тканевой реакции при имплантации синтетических полимерных эндопротезов для пластики дефектов брюшной стенки, поверхность которых модифицирована наноразмерным алмазоподобным углеродным покрытием. Полученные данные свидетельствуют, что имплантаты с наноразмерным алмазоподобным углеродным покрытием, в сопоставлении с аналогичным полимерным материалом без покрытия, обладают большей биосовместимостью и лучшей биоинтеграцией в окружающую соединительную ткань в процессе инкапсуляции в отдаленные сроки.

Ключевые слова: биосовместимость, протез, углеродное покрытие

BIOCOMPATIBILITY INVESTIGATION OF NEW SURGICAL PROSTHESES APPLIED IN ABDOMINAL WALL PLASTIC SURGERY.

Yarosh A.L., Dolzhikov A.A., Soloshenko A.V., Kolpakov A.Y., Bitenskaya E.P., Molchanova A.S., Gerasimenko D.V.

Belgorod State University, Belgorod, e-mail: yarosh_a@bsu.edu.ru

For the first time results of researches of tissue reaction are presented at implantation diamond-like carbon-coated meshes for abdominal hernia repair. Histologically, diamond-like carbon-coated meshes for abdominal hernia repair exhibited greater biocompatibility, compared to with a similar material without diamond-like carbon.

Keywords: biocompatibility, prosthesis, diamond-like carbon

Реакция организма на имплантат определяется в основном его поверхностными свойствами: химическим составом, структурой и морфологией [2, 3]. В связи с этим существующие способы регулирования биологических свойств медицинских изделий направлены на изменение физико-химических свойств поверхности с использованием физических, химических и физико-химических методов модифицирования. Особый интерес представляют методы модифицирования, которые позволяют изменять физико-химические, структурные и функциональные свойства поверхности, не влияя на объёмные характеристики изделия, такие как прочность, эластичность, электрофизические параметры и т.д. [1, 4, 5, 6]. Интересным с этой точки зрения и перспективным, нам представляется наноразмерное алмазоподобное углеродное покрытие, разработанное в научно-исследовательской лаборатории проблем разработки и внедрения ионно-плазменных технологий (рук. – Колпаков А.Я.) ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Целью исследования явилось экспериментальное изучение закономерностей формирования ответной реакции тканей при имплантации синтетических полимерных эндопротезов для пластики передней брюшной стенки с наноразмерным алмазоподобным углеродным покрытием.

Материалы и методы исследования

Исследования выполнены на 120 лабораторных крысах линии Vistar, массой 180–200 г., прошедших карантинный режим вивария ГОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ. Изготовление экспериментальных образцов эндопротезов проводилось в НИЛ проблем разработки и внедрения ионно-плазменных технологий ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». С этой целью на полипропиленовые сетки «Эсфил легкий» (ООО «Линтекс», г. Санкт-Петербург) было нанесено наноразмерное алмазоподобное углеродное покрытие (импульсное ваккуумно-дуговое распыление графитового катода, толщина покрытия p ~70 nm).

Экспериментальные образцы эндопротезов (1,5×1,5 см) в стерильных условиях помещали подкожно без дополнительной фиксации. В качестве контроля использовали полипропиленовый сетчатый протез «Эсфил легкий» без покрытия. Животных выводили из эксперимента на 7-е, 21-е и 180-е сутки.

Гистологические препараты сканировали с помощью системы для сканирования, архивирования и анализа изображений «Mirax Desk» (Carl Zeiss). Анализ микроскопических картин и морфометрию проводили на сканированных микропрепаратах с помощью программы «Pannoramic Viewer 1.14». Средствами этой же программы, а также с помощью программы захвата изображений «Fast Stone Capture», производили микрофотографирование.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007 SP-3. Для обработки полученных данных использовали методы дескриптивной статистики и критерии оценки достоверности межгрупповых различий. Межгрупповые различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Первоначально мы оценили характер тканевой реакции при имплантации сетчатого протеза «Эсфил легкий» без покрытия. Совокупность наблюдаемых реакций отражала типичную последовательность изменений в зоне введения инородного тела. При этом воспалительные изменения сохранялись достаточно долго – на 21-е сутки грануляционная ткань с признаками неполной зрелости, очаги воспалительной реакции присутствовали даже через 6 месяцев. На ранних сроках выявлялась гигантоклеточная реакция макрофагов на инородное тело – имплантат, которая нарастала в интервале с 7 до 21-х суток. Через 6 месяцев имплантат полностью инкапсулировался. Однако сформированная соединительно-тканная капсула была неоднородной: участки преобладающего фиброза (даже с очагами гиалиноза) сочетались с зонами воспалительной инфильтрации. На внутренней поверхности определялись клетки типа эпителиоидных гистиоцитов. Не наблюдалось полной интеграции структур капсулы в окружающую соединительную ткань – между ними четко прослеживалась граница.

Далее мы оценили характер тканевой реакции при имплантации экспериментальных образцов эндопротезов с наноразмерным алмазоподобным углеродным покрытием. На 7-е сутки эксперимента вокруг образца определялась равномерная зона грануляционной ткани с визуально меньшей плотностью клеточного состава в сравнении с контролем. Наружная граница инфильтрата также была нечеткой, но определяемая ширина была значительно меньше и составляла 100–150 мкм ($p < 0,05$). Существенно отличался и клеточный состав – преобладали незрелые фибробласты, составившие 55–70% ($p < 0,05$), а лейкоциты и гистиоцитарные элементы составили 30–45% ($p < 0,05$). Инфильтрат имел рыхлое строение, не содержал характерных для грануляционной ткани капиллярных структур. Гигантские клетки инородных тел отсутствовали. Поверхность экспериментального образца имплантата в гистологических препаратах содержала непрерывный серо-коричневый слой покрытия толщиной 1,5–2 мкм. Контакт покрытой наружной поверхности с окружающими реактивными тканями был плотный, без проникновения элементов инфильтрата в толщу имплантата (рис. 1).

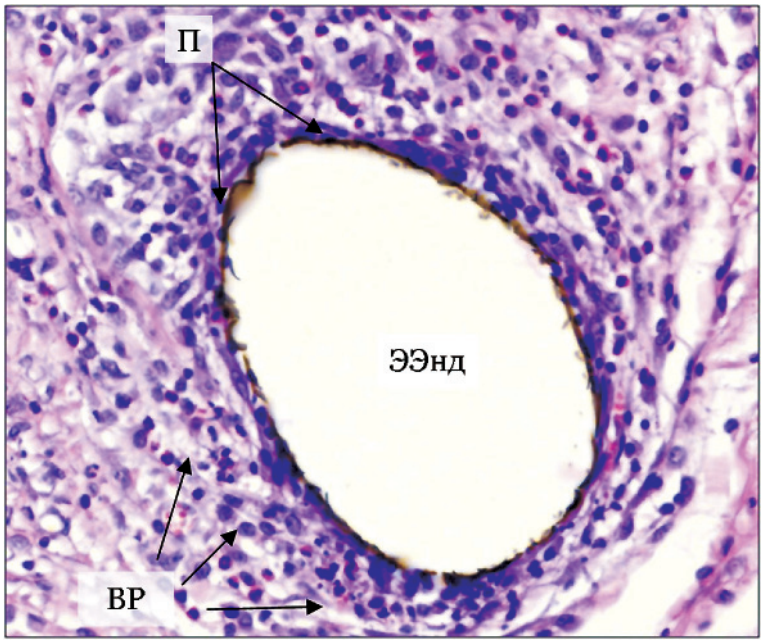

Рис. 1. Реакция соединительной ткани на экспериментальный образец эндопротеза с наноразмерным алмазоподобным углеродным покрытием (ЭЭнд) на 7-е сутки эксперимента: на поверхности имплантата непрерывный слой покрытия серо-коричневого цвета (П), зона воспалительной реакции (ВР) узкая, диффузного характера с умеренной плотностью клеточного состава, заметным количеством молодых фибробластов. Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото. ×400

На 21-е сутки после имплантации вокруг материала сформировался непрерывный слой грануляционной ткани шириной 100–160 мкм ($p < 0,05$). Определялись единичные радиально ориентированные капилляры, в клеточном составе преобладали фибробласты, составившие 60–70 % ($p < 0,05$), лейкоциты в равной пропорции (10–15 %, $p < 0,05$) представлены полиморфноядерными элементами и малыми лимфоцитами, на гистиоциты пришлось в разных участках 5–10 % ($p < 0,05$). На этом сроке уже были заметны процессы созревания грануляционной ткани в фиброзную, что проявлялось наличием четко различимых равномерно распределенных участков тонковолокнистого строения и зон гомогенного оксифильного межклеточного матрикса. Гигантские клетки инородных тел отсутствовали (рис. 2).

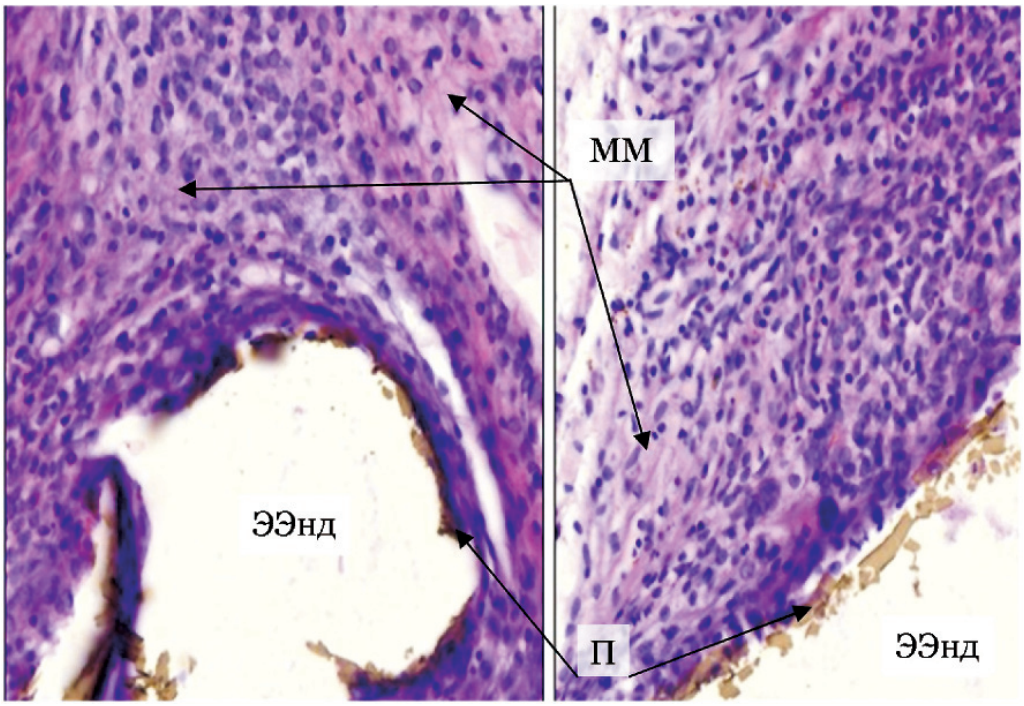

Рис. 2. Морфологические изменения в зоне имплантации экспериментального образца эндопротеза с наноразмерным алмазоподобным углеродным покрытием (ЭЭнд) на 21-е сутки: в клеточном составе преобладают фибробластические элементы (Ф), лейкоцитарный компонент выражен умеренно, четко определяются зоны формирования межклеточного матрикса (ММ), покрытие имплантата (П) участками фрагментировано, но определяется по всей площади. Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото. ×400

Через 180 суток после имплантации выявлены существенные особенности в сравнении с группой контроля. Общая картина имела вид полной инкапсуляции протеза с капсулой структурно полностью интегрированной в окружающую соединительную ткань. Структура капсулы была представлена 5–10 компактными слоями коллагеновых волокон, участками, имеющими гиалинизированный вид, между которыми равномерно распределено небольшое число фиброцитов. Элементы воспалительного инфильтрата, эпителиоидные гистиоциты на внутренней поверхности капсулы, гигантские клетки инородных тел отсутствовали. Практически отсутствовали и кровеносные сосуды. Внутренние слои капсулы имели концентрическую ориентацию вокруг сетчатых структур имплантата, снаружи плавно переходили в пучки коллагеновых волокон подкожной соединительной ткани. Толщина капсулы была меньше и составила 60–70 мкм ($p < 0,05$) (рис. 3).

Таким образом, заметные отличия в характере тканевой реакции при имплантации экспериментальных образцов эндопротезов с наноразмерным углеродным покрытием определялись уже к 7-м суткам эксперимента. Происходило более раннее формирование фибробластического компонента в грануляционной ткани, что отражали результаты подсчета относительного количества клеточных элементов в составе инфильтратов. На 21-е сутки фибробласты с морфологическими признаками функционально активных форм составляли 60–70 %, на этом сроке явно определялись зоны формирования аморфного и волокнистого компонентов межклеточного

вещества. В отдаленные сроки (180 суток) выявлена полная биоинтеграция имплантата в подкожную соединительную ткань в виде ареактивной инкапсуляции соединительной тканью, непосредственно связанной с окружающими структурами. Воспалительных и других реактивных изменений не выявлено. При этом одним из самых существенных отличий от группы контроля явилось отсутствие на всех сроках эксперимента гигантоклеточной трансформации макрофагов и формирования клеток инородных тел.

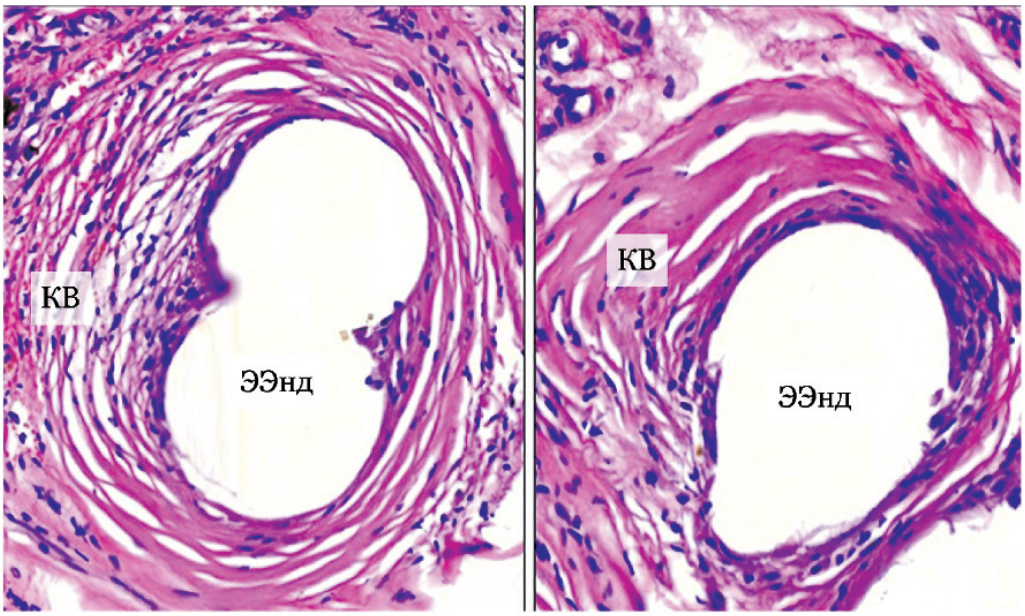

Рис. 3. Структура соединительно-тканной капсулы вокруг экспериментального образца эндопротеза: концентрические малоклеточные слои коллагеновых волокон (КВ) с плавным переходом в окружающую соединительную ткань, отсутствие воспалительных изменений и гигантоклеточной реакции на имплантат. Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото. ×400

Заключение

Нами впервые созданы экспериментальные образцы синтетических полимерных эндопротезов для пластики дефектов брюшной стенки, поверхность которых модифицирована наноразмерным алмазоподобным углеродным покрытием (Патент РФ № 98906, «Протез для пластики грыж передней брюшной стенки»). Впервые проведены исследования реакции тканей организма при их имплантации. Полученные данные свидетельствуют, что экспериментальные образцы сетчатых синтетических эндопротезов с наноразмерным алмазоподобным углеродным покрытием, в сопоставлении с аналогичным полимерным материалом без покрытия, обладают большей биосовместимостью и лучшей биоинтеграцией в окружающую соединительную ткань в процессе инкапсуляции в отдаленные сроки.

Список литературы

1. Синтез биосовместимых поверхностей методами нанотехнологии / А.П. Алехин, Г.М. Болейко, С.А. Гудкова, А.М. Маркеев, А.А. Сигарев, В.Ф. Токнова, А.Г. Кириленко, Р.В. Лапшин, Е.Н. Козлов, Д.В. Тетюхин // Российские нанотехнологии. – Том 5. – №9–10. – С. 128–136.

2. Биосовместимость / под ред. В.И. Севастьянова. – М.: И Ц ВНИИ геосистем, 1999. – 368 с.

3. Хенч Л. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей / Л. Хенч, Д. Джонс. – М.: Техносфера, 2007. – С. 305. (Серия «Мир биологии и медицины»).

4. Surface modification of Ti-6Al-4V alloy for biomineralization and specific biological response: Part I, inorganic modification / S. Ferraris, S. Spriano, G. Pan, A. Venturello, C.L. Bianchi, R. Chiesa, M.G. Faga, G. Maina, E. Vernè // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2011. Mar. – №22 (3). – P. 533–45.

5. Comparison of diamond-like carbon-coated nitinol stents with or without polyethylene glycol grafting and uncoated nitinol stents in a canine iliac artery model / J.H. Kim, J.H. Shin, D.H. Shin, M.W. Moon, K. Park, T.H. Kim, K.M. Shin, Y.H. Won, D.K. Han, K.R. Lee // Br. J. Radiol. – 2011. Mar. – №84 (999) . – P. 210–5.

6. Coating of titanium implant materials with thin polymeric films for binding the signaling protein BMP2 / C. Lorenz, A. Hoffmann, G. Gross, H. Windhagen, P. Dellinger, K. Möhwald, W. Dempwolf, H. Menzel // Macromol. Biosci. – 2011. Feb 11. – №11 (2) . – P. 234–44.

Рецензенты:

Мишустин В.Н., д.м.н., профессор кафедры хирургических болезней ФПО ГОУ ВПО «Курский государственный университет» Министерства здравоохранения и социальной защиты населения РФ, г. Курск;

Конопля А.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологической химии ГОУ ВПО «Курский государственный университет» Министерства здравоохранения и социальной защиты населения РФ, г. Курск.

Работа поступила в редакцию 24.06.2011.