



Возможность применения гидрогелевого материала на основе растительной и бактериальной целлюлозы для замещения глубоких дефектов хряща в экспериментах in vivo

¹Божкова С.А., ²Буянов А.Л., ¹Кочиш А.Ю., ¹Нетьлько Г.И., ²Смыслов Р.Ю.,
¹Полякова Е.М., ²Хрипунов А.К., ¹Румакин В.П., ¹Афанасьев А.В.

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время существует высокая потребность в имплантационном материале для реконструктивно-восстановительных операций на поврежденных хрящах [1]. Замещение дефектов гиалинового хряща суставов конечностей искусственными имплантатами представляет собой сложную ортопедическую проблему. Во многом это определяется тем, что натуральные суставные хрящи при различных видах двигательной активности человека подвергаются и способны выдерживать очень высокие и длительно-действующие нагрузки сжатия: от 3 до 20 МПа и при этом величина относительной деформации достигает 30 - 50 % [2]. Разработанные нами виды гидрогелей способны выдерживать такие нагрузки в режиме длительных циклических испытаний без признаков разрушения, обладают хорошей биосовместимостью и способны интегрироваться с живыми тканями [3, 4].

Цель исследования: оценить возможность применения гидрогелевого материала на основе растительной и бактериальной целлюлозы для замещения глубоких дефектов хряща в экспериментах in vivo

Материалы и методы.

- Образцы гидрогелей, содержащие в составе растительную и бактериальную целлюлозу (РЦ и БЦ), синтезировали методом радикальной сополимеризации акриламида с низкомолекулярным сшивающим агентом N,N'-метилен-бис-акриламидом, которую проводили внутри набухшей в реакционном растворе целлюлозы [3,4].
- Для оценки биосовместимости были выполнены: имплантация образцов РЦ и БЦ в широкую мышцу спины 24 беспородным крысам (рис.1) и имплантация образцов РЦ и БЦ в верхний заворот коленного сустава 24 беспородным

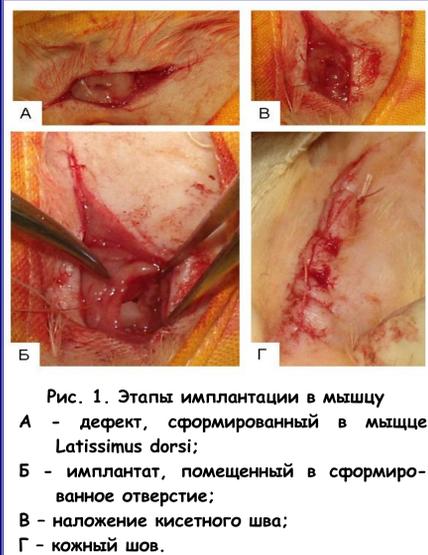


Рис. 1. Этапы имплантации в мышцу
А - дефект, сформированный в мышце Latissimus dorsi;
Б - имплантат, помещенный в сформированное отверстие;
В - наложение кисетного шва;
Г - кожный шов.

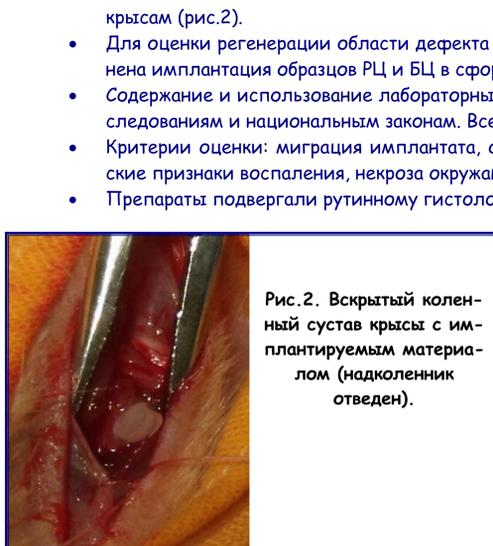


Рис.2. Вскрытый коленный сустав крысы с имплантируемым материалом (надколенник отведен).

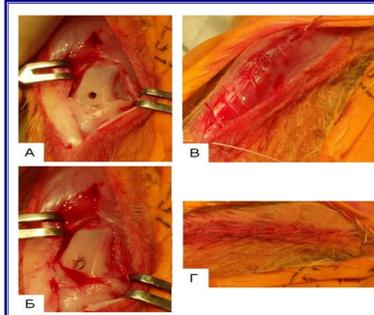


Рис.3. Имплантация в коленный сустав кролика
А - формирование дефекта (после обработки операционного поля раствором антисептика производили разрез кожи по передней поверхности коленного сустава. Вскрывали сустав, отводя надколенник наружу, обнажив мышечки бедренной кости. В межмышечковой области бедренной кости при помощи дрели и металлического сверла формировали дефект конусообразной формы основанием внутри, размер которого на 1-2 мм превышал размер образца (размер образца: высота ~3,5 мм, d~2,5);
Б - имплантат, помещенный в сформированный дефект (углубляя его на 1-1,5 мм от поверхности хряща коленного сустава);
В, Г - послойное ушивание тканей.

Полученные результаты.

В течение всего срока исследования у экспериментальных животных не выявлено внешних признаков воспаления в области установки имплантата. Все раны зажили первичным натяжением.

При оценке биосовместимости не установлено патоморфологических различий в реакции окружающих имплантат тканей в зависимости от его природы (растительная или бактериальная целлюлоза). Ранние сроки (5 сут.) характеризовались умеренной воспалительной реакцией мышц спины и тканей коленного сустава, по-видимому, в ответ на операционную травму (рис.4, 5А). На 14 и 45 сутки вокруг имплантата определялась фиброзная капсула толщиной 100-200 мкм без признаков воспаления в окружающих тканях (рис. 5Б, 6, 7).

При осмотре макропрепаратов коленного сустава кроликов вне зависимости от срока исследования не выявлено признаков воспаления в области имплантации: отека, гиперемии, выпота и патологических грануляций (рис.8). Миграции исследуемых образцов из области установки не было ни у одного из экспериментальных животных. Сравнение макропрепаратов с имплантатами различной природы показало, что на 5 и 14 сутки существенных различий между образцами из бактериальной и растительной целлюлозы не было (рис.9 А, Б, Г, Д). На 45 сутки образец бактериальной целлюлозы (рис.9В) плотно прилегал к краям дефекта гиалинового хряща, суставная поверхность была гладкой без видимых неровностей в месте контакта гидрогеля с хрящом, в то время как на рис. 9Е визуализируется поверхностное отграничение образца из растительной целлюлозы от края дефекта хряща. Морфологическое исследование образцов гиалинового хряща кроликов продолжается.

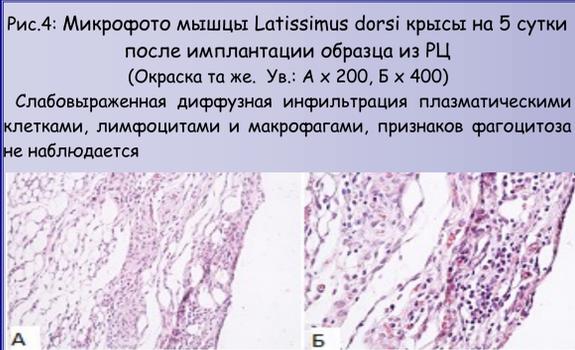


Рис.4: Микрофото мышцы Latissimus dorsi крысы на 5 сутки после имплантации образца из РЦ (Окраска та же. Ув.: А x 200, Б x 400)

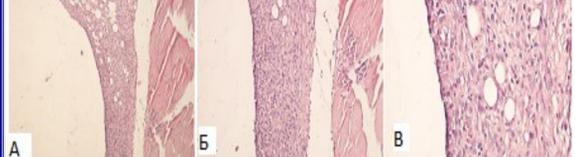
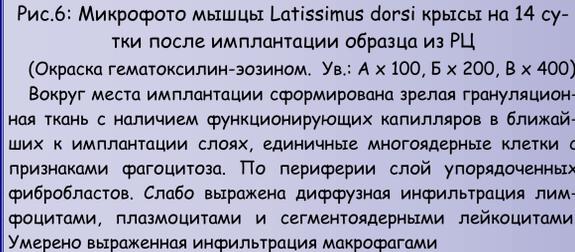


Рис.6: Микрофото мышцы Latissimus dorsi крысы на 14 сутки после имплантации образца из РЦ (Окраска гематоксилин-эозином. Ув.: А x 100, Б x 200, В x 400) Вокруг места имплантации сформирована зрелая грануляционная ткань с наличием функционирующих капилляров в ближайших к имплантации слоях, единичные многоядерные клетки с признаками фагоцитоза. По периферии слой упорядоченных фибробластов. Слабо выражена диффузная инфильтрация лимфоцитами, плазматическими и сегментоядерными лейкоцитами. Умеренно выраженная инфильтрация макрофагами

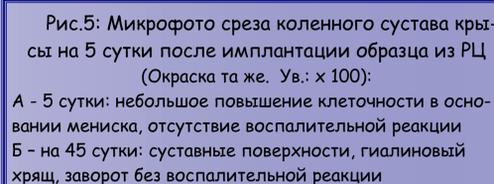


Рис.5: Микрофото среза коленного сустава крысы на 5 сутки после имплантации образца из РЦ (Окраска та же. Ув.: x 100):
А - 5 сутки: небольшое повышение клеточности в основании мениска, отсутствие воспалительной реакции
Б - на 45 сутки: суставные поверхности, гиалиновый хрящ, заворот без воспалительной реакции

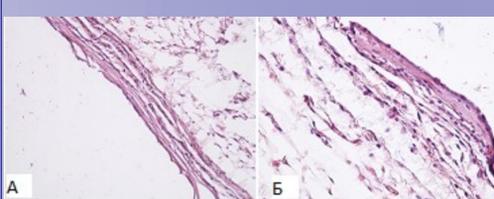
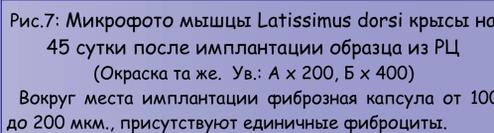


Рис.7: Микрофото мышцы Latissimus dorsi крысы на 45 сутки после имплантации образца из РЦ (Окраска та же. Ув.: А x 200, Б x 400) Вокруг места имплантации фиброзная капсула от 100 до 200 мкм., присутствуют единичные фиброциты.



Рис.8: Макропрепарат коленного сустава кролика на 45 сутки после замещения дефекта хряща образцом БЦ. Отсутствие признаков воспаления и инфекции окружающих тканей, гладкая суставная поверхность



Рис.9: Макропрепараты области замещения глубокого дефекта хряща имплантатами из бактериальной (А—5 сут., Б—14 сут., В—45 сут.) и растительной (Г—5 сут., Д—14 сут., Е—45 сут.) целлюлозы

Заключение

Тестируемые образцы гидрогелевого материала на основе бактериальной и растительной целлюлозы в сроки до 45 суток не мигрируют из области установки, характеризуются хорошей биосовместимостью с окружающими тканями и не индуцируют перифокальное воспаление. Реакция мышечной ткани на имплантацию образцов «искусственного хряща» протекает по неспецифической схеме, характерной для раневого процесса и реакции на инородное тело: на ранних сроках - явления умеренной воспалительной реакции, далее формирование тонкой капсулы вокруг имплантата.

Предварительные результаты исследования свидетельствуют, что гидрогелевый материал на основе бактериальной и растительной целлюлозы возможно применять для замещения глубоких дефектов хряща. Однако для окончательного заключения необходимо проанализировать результаты патоморфологического исследования срезов области дефектов гиалинового хряща и оценить состояние тканей в поздние сроки после имплантации.

Работа была поддержана грантом Программы фундаментальных исследований Президиума РАН "Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий" (ФИМТ-2014-066)

Библиография.

1. D.N. Ku. New Soft Tissue Implants Using Organic Elastomers //Revised Selected Papers Int. Joint Conf. "Biomedical Engineering Systems and Technologies, BIOSTEC" / Ed. by A. Fred, J. Filipe, H. Gamboa. Berlin: Heidelberg: Springer_Verlag, 2008. P. 85-95.
2. C. Lee, S. Grad, M. Wimmer and M. Alini. The Influence of Mechanical Stimuli on Articular Cartilage Tissue Engineering. In: Topics in Tissue Engineering. // Ed. By N. Ashammakhi and R.L. Reis. 2006. V.2. P. 1-32.
3. И.В. Гофман, А.Л. Буянов, А.К. Хрипунов, Л.Г. Ревельская. Деформационное поведение композиционных полимерных гидрогелей на основе целлюлозы и полиакриламида - биомедицинских материалов для протезирования хрящевой ткани человека. Деформация и разрушение материалов. 2008. № 3. С. 2-10.
4. А. Л. Буянов, И. В. Гофман, А. К. Хрипунов, А. А. Ткаченко, Е. Э. Ушакова. Высокопрочные биосовместимые гидрогели на основе полиакриламида и целлюлозы: синтез, механические свойства и перспективы применения в качестве искусственных заменителей хрящевых тканей. Высокомолек. соед. 2013. Серия А. Т. 55. № 5. С. 512-522.