

Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова
Факультет Наук о Материалах

БИОМАТЕРИАЛЫ

Реферат выполнили
студентки 5-ого курса
Плохих Н.В.
Синицына О.В.

Москва, 2004.

Оглавление

ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ. КРАТКИЙ ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК.	3
ЗАМЕНИТЕЛИ КОСТНОЙ ТКАНИ	5
Биоинертная керамика	7
Стеклокерамические биоматериалы	8
Материалы на основе фосфатов кальция	10
Цементы на основе фосфатов кальция	10
СОЗДАНИЕ ЗУБА	13
ИСКУССТВЕННАЯ КОЖА	15
ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ТОНКОЙ КИШКИ	17
БИОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ХИРУРГИИ - НИТИ	21
ИСКУССТВЕННЫЕ ХРУСТАЛИКИ ГЛАЗА	24
Раздражители	24
Оценка качества имплантата	25
1. УФ-спектроскопия	26
2. Измерение электропроводности	27
3. Кипячение в камерной влаге	28
4. Длительное выдерживание в дистиллированной воде	29
5. Выдержка в растворе щелочи	30
6. Электронный парамагнитный резонанс	30
Биополимеры	31
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	33
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	34

Трансплантология. Краткий исторический очерк.

Трансплантационная хирургия в мире развивается настолько быстро, что число различных пересадок органов и тканей достигло 40 тысяч в год, и в ближайшие десятилетия будет составлять 50% всех операций.

В странах, которые у нас принято называть „развитыми“, на 1 млн. — 500 человек имеют возможность находиться на гемодиализе, т.е. лечить острую и хроническую почечную недостаточность с помощью аппарата "искусственная почка", 40 — получают донорскую почку, 12-ти пересаживаются другие жизненно важные органы. Во всех странах мира существует нехватка донорских органов. Камнем преткновения в таком случае становится беседа с живым здоровым человеком о заборе органов после смерти. Нет такой области в медицине, где настолько ярко были бы сфокусированы проблемы этического порядка, как в трансплантологии. Презумпция согласия состоит в том, что подразумевается прижизненное согласие большинства членов общества на забор органов после смерти, но в случае категорического неприятия человек имеет право написать письменный отказ. Презумпция несогласия — наоборот, прижизненное несогласие на забор органов. Презумпция согласия существует в Финляндии, Португалии, Австрии, Швеции, Испании, Италии, Греции, Бельгии, Франции. Презумпция несогласия — в США, Латинской Америке, Великобритании, Ирландии, Дании.

Первая экспериментальная пересадка органа была выполнена Э. Ульманом в Вене (Австрия). Ученый-хирург работал над изобретением сосудистого шва и в январе 1902 года представил на совет Королевского общества хирургов козу с пересаженной ей на шею почкой собаки. Операция прошла успешно, но через три недели произошло отторжение органа по неизвестным еще тогда причинам. А. Каррель в 1910-1912 годах в Нью-Йорке во время независимого научного исследования по применению сосудистых швов провел на животных серию блестящих операций по пересадке почек и доказал возможность сшивания сосудов и полного восстановления кровообращения в пришитом органе; он был удостоен Нобелевской премии. Техническая проблема пересадки почки была решена, однако наука была бессильна перед реакцией отторжения трансплантата. Неоднократно предпринимались попытки пересадки органов животных человеку, но все они заканчивались отторжением в течение недели. Отсутствие знаний иммунологии затормозило развитие трансплантологии на тридцать лет.

Первую успешную пересадку почки в клинических условиях от близнеца к его брату в 1954 году провел Д. Мюррей (США). Реципиент прожил после операции двадцать лет, сохраняя социальную активность. Было доказано, что приживаемость органа от однойцевого

близнеца очень высокая, но родственная пересадка не могла решить проблемы донорства, поэтому чрезвычайно важное значение имели фундаментальные исследования в области изучения иммунокомпетентных клеток. Иммуносупрессия (угнетение иммунитета с развитием инфекций) первоначально заключалась в облучении и применении больших доз 6-меркаптопурина и кортизона (противовоспалительных средств). В 1963 году на первом конгрессе трансплантологов был представлен азатиоприн, менее токсичный, чем 6-меркаптопурин. В последующие 10 лет больным назначали комбинацию азатиоприна с преднизолоном.

В 1972 году Ж. Ф. Боррель в Базеле (Швейцария) открыл селективный иммунодепрессант циклоспорин А, позволивший проводить эффективную и относительно безопасную профилактику отторжения трансплантатов.

Вторым по частоте пересаживания жизненно важным органом является печень. История трансплантации печени охватывает более 50 лет. Возникающая впоследствии атрофия пересаженной печени не позволяла широко внедрить операции. В начале 60-х годов стало известно, что причиной атрофии является отсутствие портального кровотока в донорском органе. Первая попытка клинической пересадки была предпринята 1 марта 1963 года группой американских хирургов во главе с Томасом Старлзом. Эта операция, так же как и серия последующих, была не слишком удачной. К концу 1967 года было проведено несколько десятков операций по пересадке печени, 14 из них — Томасом Старлзом, и ни один из реципиентов не прожил более 12 месяцев.

Однако с появлением новых протоколов иммунодепрессивной терапии, таких как азатиоприн плюс преднизолон плюс антитимоцитарный глобулин, были получены первые положительные результаты. На конгрессе американских хирургов в 1968 году были представлены трое детей с прижившейся функционирующей печенью. Томас Старлз, который по праву считается основоположником мировой трансплантологии, до 1980 года произвел 170 операций по пересадке печени. С начала восьмидесятых годов пересадка печени стала рутинной операцией при многих заболеваниях.

Удаление части печени для пересадки больным безопасно для донора. Американские ученые установили, что в течение двух недель после этой процедуры происходит регенерация и полное восстановление функции печени.

Проблема пересадки сердца как метода лечения больных с конечными стадиями сердечных заболеваний в мировой практике уже давно не нова. Эксперименты по ортотопической трансплантации сердца начались в середине 50-х годов. Потребовалось более 10 лет, чтобы разработать технологию аналогичной операции у людей. 3 декабря 1967 года в госпитале Грут Шут, Кейптаун, ЮАР, прошла первая в мире удачная операция по

трансплантации сердца человека. Профессор медицины, кардиолог Кристиан Барнард провел пересадку сердца 55-летнему реципиенту от 25-летней женщины-донора. Иммунодепрессивную терапию проводили облучением грудной клетки дозой в 150 Рад, в комплексе с имураном (азатиотрином) и преднизолоном. Вследствие развития двусторонней застойной пневмонии на фоне иммунодепрессии, больной умер на 18 сутки, без признаков отторжения. Уже через 5 лет после операции Барнарда вероятность выживания больных с трансплантированным сердцем возросла на 50%. Люди могли рассчитывать минимум на пять дополнительных лет жизни. Это стало возможным благодаря непрерывному совершенствованию подбора пары донор-реципиент и методов иммунодепрессии.

Для мировой трансплантологии ближайшей перспективой развития пересадки органов является ксенотрансплантация и дальнейшая разработка искусственных органов. Это позволит решить острую проблему нехватки донорских органов и этическую проблему донорства.

Заменители костной ткани.

За последние 30 лет прошлого века использовано более 40 различных материалов (керамика, металлы, полимеры) для лечения, восстановления и замены более 40 различных частей человеческого тела, включая кожные покровы, мышечную ткань, кровеносные сосуды, нервные волокна, костную ткань. Исследования, разработка и производство биокерамических материалов для восстановления утраченной костной ткани составляют существенный сегмент современного рынка наукоемких технологий. Можно дать следующую осторожную оценку параметров рынка биокерамики: емкость < 2,3 млрд долл., прогнозируемый годовой прирост составляет 7–12%, объемы требуемых материалов оцениваются на уровне десятков тонн. Число больных, нуждающихся в операциях по восстановлению целостности кости, довольно велико: для США эта цифра составляет 1 млн человек и более ежегодно.

Кость имеет довольно сложное строение и разнообразный тканевый состав. Выдающиеся механические характеристики компактного вещества обеспечиваются особым пространственным расположением образующих его структурных компонентов – костных пластинок толщиной 3–10 мкм.

Три основные группы веществ составляют кость: коллаген (25 мас. % – органическая составляющая костной ткани, или костный матрикс), фосфаты кальция (65 мас. % – неорганическая составляющая) и вода (10 мас. %). Кроме указанных веществ в костной ткани присутствуют в малых количествах другие органические соединения (отличные от коллагена белки, полисахариды, липиды). Состав костной ткани представлен следующими ионами (см. таблицу 1):

Таблица 1. Химический состав костной ткани и зубов (в мас. %)

Компонент	Костная ткань	Ткань зуба (дентин)
Ca	34.8	35.1
P в виде PO_4^{3+}	15.2	16.9
Na	0.9	0.6
Mg	0.72	1.23
K	0.03	0.05
C в виде CO_3^{2-}	7.4	5.6
F	0.03	0.06
Cl	0.13	0.01
Неорганическая составляющая	65	70
Органическая составляющая	25	20
Вода	10	10
Отношение Ca/P (мольное)	1.71	1.61

Коллаген придает тканям организма необходимую механическую прочность при деформациях типа растяжения и изгиба. Молекулы коллагена, состоящие из трех скрученных спирально полипептидных нитей, способны собираться в волокна диаметром 100–2000 нм. Прочность костной ткани на сжатие обусловлена минеральной составляющей – фосфатами кальция (преимущественно в форме гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (ГАП)). Кристаллы гидроксиапатита присутствуют в кости в форме пластин с размерами 50x20x5 нм, ориентированных определенным образом по отношению к оси коллагеновых волокон. Выделяют до семи уровней организации (архитектуры) костной ткани (рис. 1).

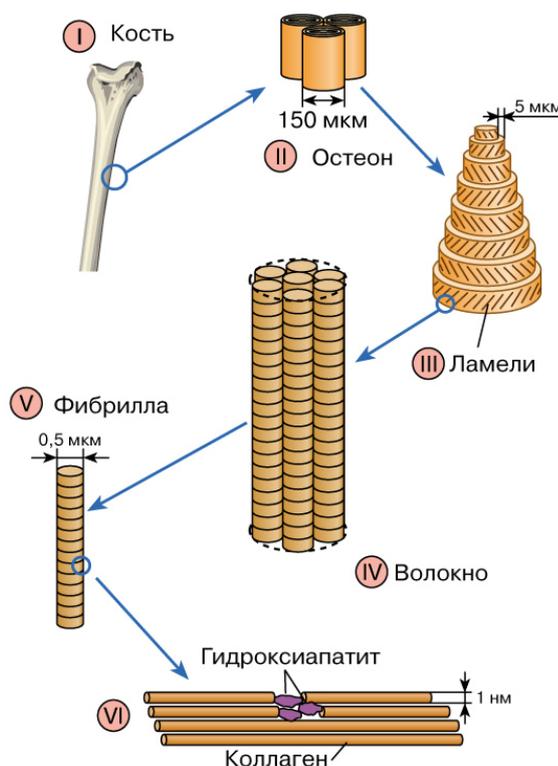


Рис.1. Иерархические уровни организации костной ткани

Органический костный матрикс и неорганическая составляющая образуют своеобразный композиционный материал. Воспроизвести досконально морфологию костной ткани *in vitro* (и, следовательно, достичь такого же, как у кости, сочетания биологических и механических свойств) не представляется возможным в ближайшее время. Биоматериалы, претендующие на роль имплантатов, должны удовлетворять требованиям, диктуемым описанной выше структурой, составом и свойствами костной ткани:

1) химические свойства – отсутствие нежелательных химических реакций с тканями и межтканевыми жидкостями, отсутствие коррозии;

2) механические характеристики биокерамики должны быть близкими к костным (например, различие в упругости может привести к утрате имплантата вследствие резорбции находящегося с ним в контакте костного вещества);

3) биологические свойства – отсутствие реакций со стороны иммунной системы организма, срастание с костной тканью, стимулирование процесса образования костной ткани (остеосинтеза);

4) для быстрого прорастания костной ткани в имплантат необходимо наличие в последнем сквозных пор размером 100–150 мкм.

Используемые в настоящее время материалы можно разделить на три большие группы, применяя в качестве критерия отклик организма на введенный в него имплантат:

1) токсичные (окружающие ткани отмирают при контакте) – большинство металлов;

2) биоинертные (нетоксичные, но биологически неактивные) – керамика на основе Al_2O_3 , ZrO_2 ;

3) биоактивные (нетоксичные, биологически активные, срастающиеся с костной тканью) – композиционные материалы типа биополимер – фосфат кальция, керамика на основе фосфатов кальция, биостекла.

Биоинертная керамика.

Два свойства делают керамику привлекательной в качестве материала для изготовления имплантатов. Во-первых, ее исключительная химическая инертность, во-вторых, высокая прочность. Но возникают проблемы с тем, что кость не может врасти в имплантат, и место контакта заполняется волокнистой соединительной тканью, которая механически охватывает инородное тело. Ясно, что такой контакт не может быть прочным. Похвальные прочностные

характеристики керамики оборачиваются ее повышенной жесткостью. Представим себе модель керамического имплантата в кости в виде двух состыкованных разнородных материалов: один из них – мягкий (кость), другой – жесткий (керамика). Если приложить к такой системе механическую нагрузку, то она распределится неравномерно: большую часть возьмет на себя жесткий керамический элемент. При отсутствии привычной нагрузки клетки костной ткани запускают процесс растворения кости, которая приводит к развитию остеопороза – болезни, заключающейся в уменьшении массы костей за счет развития их пористости. Остеопороз в сочетании с изначально непрочным контактом керамика–кость означает, что в приконтактной области кости вероятность перелома особенно велика. Из 100 тыс. операций по трансплантации костной ткани, проводимых ежегодно в Великобритании, 18% составляют повторные операции по замене имплантата, утраченного в силу описанных выше причин.

Следует отметить еще один недостаток, присущий керамическим материалам. Речь идет об их повышенной хрупкости, то есть неспособности выдерживать заметные деформации без разрушения. Нагрузка, приложенная к хрупкой керамике, приводит к очень быстрому – катастрофическому, росту микротрещин, имеющих практически в любом материале, и как следствие – к разрушению. Это явление особенно заметно при динамической нагрузке: ударах, толчках и т.д. Таким образом, не только зона контакта керамика кость, но и сам керамический имплантат при определенных условиях может являться областью вероятного перелома.

Несмотря на перечисленные недостатки, существуют области травматологии и ортопедии, где керамическим имплантатам нет альтернативы. В первую очередь это относится к протезированию тазобедренного сустава. Наиболее широко используют здесь керамику из оксида алюминия (Al_2O_3) с добавкой очень малых количеств MgO (менее 0,5%) с целью получения мелкозернистого поликристаллического материала. Низкой трещиностойкости, присущей керамике на основе Al_2O_3 , лишен керамический материал, изготовленный из оксида циркония (ZrO_2) с добавками оксидов магния или иттрия. За свои великолепные механические характеристики подобный материал получил название “керамической стали”.

Стеклокерамические биоматериалы.

Как известно, обычное стекло представляет собой достаточно быстро охлажденный расплав, содержащий оксиды Na_2O , CaO , SiO_2 , а также другие оксидные добавки. Биоактивные стекла, история использования которых насчитывает уже более 30 лет, содержат в своем составе оксиды Na_2O , CaO , SiO_2 , P_2O_5 . При создании большинства биостекол используется состав 45S5: 24,5% Na_2O , 24,5% CaO , 45% SiO_2 , 6% P_2O_5 . Изменяя состав, можно в широких пределах менять биоактивность таких материалов. Медленное охлаждение расплава указанных оксидов по специальным температурным режимам позволяет частично закристаллизовать

стекло (при этом чаще всего образуется метасиликат кальция – волластонит CaSiO_3) и получить смешанные, стеклокристаллические материалы – биоситаллы, которые имеют более высокие по сравнению со стеклами механические характеристики.

Биостекла и материалы на их основе не воспринимаются организмом как что-то чужое, напротив, серия биохимических реакций (рис. 2) на границе биостекло–кость приводит к интенсивному образованию костной ткани в области контакта и в конечном счете к врастанию имплантата в костную ткань. Следует отметить, что переходный слой между биостеклом и костью может иметь толщину до 1 мм (ср. со слоем волокнистой соединительной ткани, имеющим толщину порядка 1 мкм, в случае имплантирования биоинертной керамики) и быть настолько прочным, что перелом произойдет в любом другом месте, но не в зоне срастания.

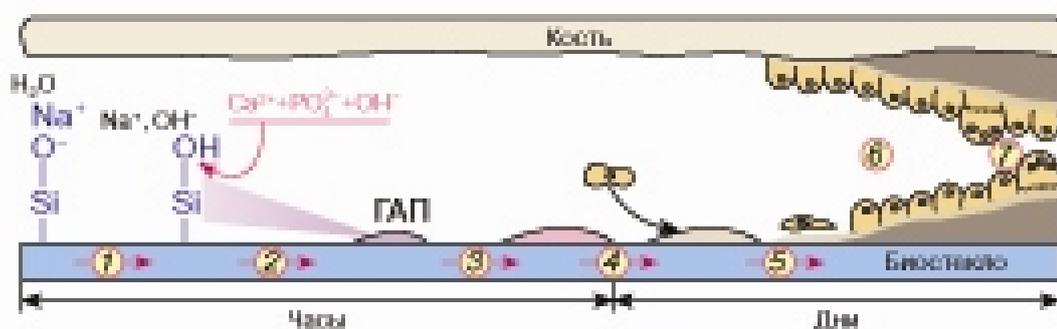


Рис. 2. “События” на границе биостекла и костной ткани: 1– формирование Si–ОН-групп на поверхности стекла в результате ионного обмена, 2– образование аморфного фосфата кальция на поверхности гидратированного стекла и его кристаллизация в ГАП, 3 – адсорбция биологически активных веществ апатитовым слоем, 4 – “включение” иммунной системы; направленный выброс и адсорбция специфических костных белков, 5 – прикрепление недифференцированных клеток и их превращение в костные клетки, 6 – рост костного матрикса и его минерализация, 7 – перестройка костной ткани и “зарастание” промежутка между стеклом и костью. Условно говоря, граница между “неживым” и “живым” проходит по стадиям 4 – 5.

Считается, что ключевым элементом, который обеспечивает высокую биоактивность указанных материалов, является кремний. Гидролиз биостекла в межтканевой жидкости приводит к образованию тонкого желеобразного слоя (геля) кремниевой кислоты – на поверхности имплантата. Отрицательно заряженные гидроксильные группы поверхности слоя кремниевой кислоты притягивают из окружающего раствора межтканевой жидкости ионы Ca^{2+} , заряд поверхности становится положительным, затем на поверхность осаждаются фосфат-ионы – происходит рост слоя гидроксиапатита.

Механические характеристики биостекол не столь обнадеживающие, как их биосовместимость и активность. В силу этого биостекла находят применение в качестве малых или слабонагружаемых имплантатов в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

Материалы на основе фосфатов кальция.

При температуре человеческого тела в контакте с водной средой устойчивы только четыре индивидуальных фосфата кальция. Водная среда при 37⁰С и рН > 5 разлагает фосфаты кальция с образованием гидроксиапатита – наиболее устойчивого фосфата кальция в условиях организма. В присутствии паров воды ГАП устойчив к нагреванию вплоть до температуры 1360⁰С! Следует отметить, что плазма крови (равно как и другие межтканевые жидкости) пересыщена относительно ГАП. Это означает, что из межтканевых жидкостей могут самопроизвольно выпадать кристаллы ГАП, и если этого не происходит, то лишь благодаря сложным биохимическим процессам локального связывания и высвобождения ионов кальция и фосфат-ионов с участием биополимеров и ферментов. При нарушениях нормального обмена веществ в организме происходит кристаллизация ГАП в любых (необязательно костных) тканях – процесс патологической кальцификации тканей. Это явление сопровождается образованием фосфатных камней, обызвествление сосудов, рост атеросклеротических бляшек. В действительности ГАП является соединением переменного состава, и его формула может быть представлена как $Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$, где $0 < x < 1$ (то есть отношение Ca/P может меняться от 1,5 при $x = 1$ до 1,67 при $x = 0$). В кристаллической структуре апатита возможна частичная замена (замещение) катионов кальция на другие ионы, например на Sr^{2+} , Ba^{2+} , Be^{2+} , Pb^{2+} . Фосфат-ионы могут быть замещены на SiO_4^{4-} или CO_3^{2-} а вместо OH-групп – Cl^- , Br^- , F^- . Значительное количество фтора входит в состав ГАП, содержащегося в зубах. Характерной чертой ГАП, составляющего костные ткани организма, является присутствие в его структуре. Карбонат-ион является одним из основных источников деформации решетки апатита, создающей локальные механические напряжения и дефекты в кристаллах ГАП, и определяющей биологическую активность костного апатита, часто называемого в этой связи карбонат-апатитом. С определенной долей условности формулу минерального компонента костных тканей можно записать в виде $Ca_9(CO_3)_x(HPO_4)_y(PO_4)_5(OH)$ (где $x+y=1$; интересно, что с возрастом содержание карбонат-иона в костном ГАП возрастает и наряду с другими причинами вызывает понижение механической прочности костей у пожилых людей). Как следствие весьма желательно, чтобы синтетический ГАП, выдвигаемый на роль заменителя биоапатита, был бы похожим на своего природного “собрата”: состоял из пластинчатых кристаллов малого размера (50 нм) и имел в своем составе карбонат-ион.

Цементы на основе фосфатов кальция.

Разработка цемента на основе фосфатов кальция – перспективная область материаловедения, привлекающая повышенное внимание исследователей.

Цементная масса получается при перемешивании порошков фосфатов кальция и водных растворов. При этом происходит частичное растворение фосфатов кальция и образование наименее растворимого продукта.

К настоящему времени предложено множество композиций, основанных на смесях различных фосфатов кальция: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, CaHPO_4 , $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, α , β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, аморфный фосфат кальция (АФК), см. таблицу 2. Несмотря на большое число всевозможных исходных составов, в системе возможно образование только двух конечных продуктов – ГАП и $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (ДКФД).

Таблица.2 Основные кальций фосфатные цементы, представленные на рынке биоматериалов.

Название цемента	Фирма-производитель	Состав	Конечный продукт
α-BSM	ETEX	АФК, ДКФД	ГАП
Norian SRC	Norian (Synthes-Stratec)	α -ТКФ, CaCO_3 , МКФМ	КГАП
Fracture Grout	Norian	ТетКФ, CaCO_3 , H_3PO_4	ГАП
Bonesource	Leibinger	ТетКФ, ДКФ	ГАП
Cementec	Teknimed	α -ТКФ, ТетКФ, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, H_3PO_4	ГАП
Mimix	Lorenz Surgical	α -ТКФ, ТетКФ, лимонная к-та	ГАП
Biocement D	Merck Gmbh	α -ТКФ, ДКФ, CaCO_3 , нГАП	КГАП
Biopex	Mitsubishi Materials	α -ТКФ, ТетКФ, ДКФД	ГАП
chronOS Inject	Mathys Medical	β -ТКФ, МКФМ	ДКФД

АФК – аморфный фосфат кальция, ТКФ – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, ДКФ – CaHPO_4 , МКФМ – $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, ТетКФ – $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$, ГАП – $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, КГАП – карбонатгидроксилапатит.

Классификацию кальций фосфатных смесей проводят в зависимости от продуктов, образующихся в цементном камне: (а) апатитовые КФЦ и (б) брушитовые КФЦ (см. уравнение 1,2). Брушитовые (гидравлические) цементы имеют ряд интересных особенностей, основной из которых является высокая скорость резорбции в организме. Подавляющее число работ посвящено получению и исследованию апатитовых цементов. Основными аспектами, которым уделяется пристальное внимание при изучении цементных масс, являются: химическая эволюция, процедура замешивания, реологические свойства, механические параметры, разогрев (как результат экзотермических реакций), усадка (изменение объема цементной массы при отверждении), биорезорбируемость (скорость растворения).

Можно отметить два основных типа цементных реакций. К первому типу относятся кислотно-основные взаимодействия, в ходе которых относительно «кислый» фосфат кальция (т.е. $\text{Ca/P} < 1.5$) реагирует с основным ($\text{Ca/P} > 1.67$) с образованием «нейтрального» продукта – ГАП:



К реакциям второго типа относят те, в которых исходный фосфат кальция и продукт имеют одинаковую стехиометрию (см. уравнение 3):



Образование цементного камня связано с образованием и ростом кристаллов ГАП и их взаимным перекрыванием. Фосфаты кальция являются хрупкими материалами, их прочность на сжатие (10 – 100 МПа) сильно превосходит прочность на изгиб (1-10 МПа). Для сравнения, прочность традиционно используемых метилметакрилатных цементов - 30 МПа. Механическая прочность цементов зависит от состава смеси. Главным определяющим фактором является количественное соотношение между порошком и растворной компонентой (Тв/Ж). При увеличении соотношения Тв/Ж уменьшается пористость материала: 10% уменьшение пористости приводит к двукратному увеличению прочности на сжатие. Типичные значения пористости СРС материалов – 30-60%, размер пор близок к 1 мкм.

Измерения прочности цементов, как правило, не документируются производителями, поэтому сложно сравнивать параметры, приводимые в литературе по разным источникам. Предпринимались попытки сопоставить различные материалы. Так, например, прочность на сжатие цементов Norian SRS, Cementec, Biocement D и α -BSM составила 33 ± 5 , 8 ± 2 , 83 ± 4 и 4 ± 1 МПа соответственно. То, что Biocement D имеет наибольшую прочность на сжатие, однако, не означает его наименьшую ломкость. Необходимо учитывать, что начальная прочность цементных материалов существенно меняется после имплантации.

КФЦ имеют открытую пористость, но малые размеры пор не позволяют костной ткани прорасти внутрь материала. Поверхностная биорезорбция цементов протекает медленно послойно на поверхности материала (рис. 3).

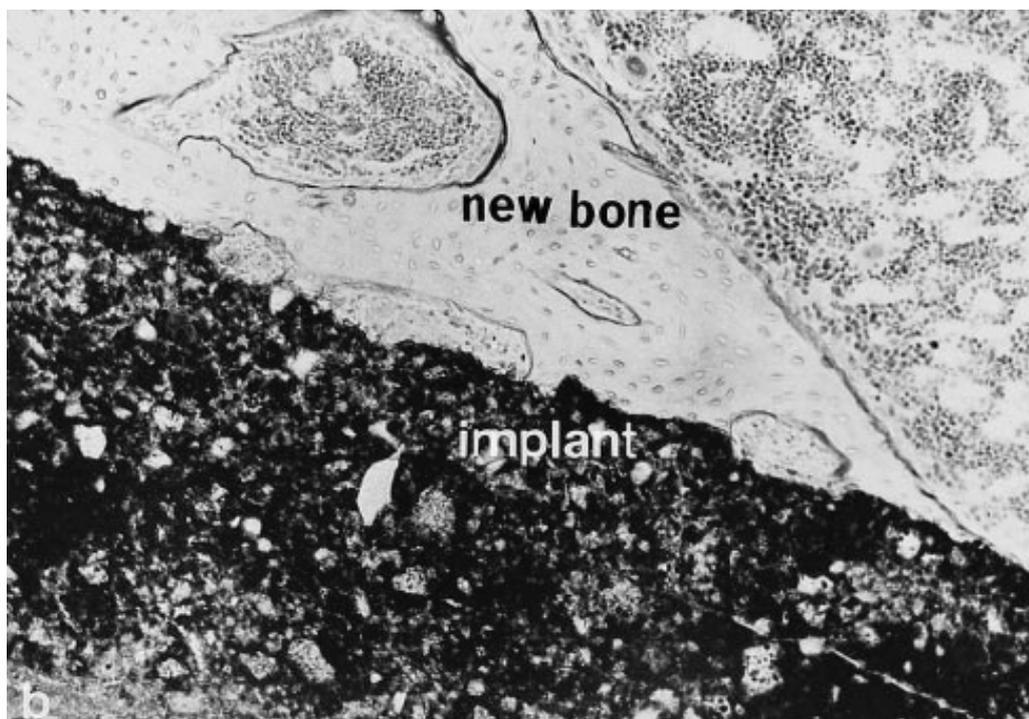


Рис.3 Формирование новой костной ткани на границе с цементным имплантатом состава 75% $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 20% $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ и 5% CaHPO_4 .

Цемент Norian SRS теряет 30% по массе после 24 месяцев имплантации. В общем случае, скорость резорбции меньше при большем размере кристаллов в цементной массе и меньшей пористости.

Низкотемпературная «керамика» - цементы – обладают рядом преимуществ по сравнению с традиционной керамикой. В цементных системах формируется легкорезорбируемый нанокристаллический апатит, цементную массу легко адаптировать к костным дефектам сложной формы. Кальций фосфатные цементы биоактивны и остеоиндуктивны (способствуют активному росту новой костной ткани).

Создание зуба

Взрослая ткань зуба практически не способна к самостоятельной регенерации, и дефект эмали, в результате действия повреждающих факторов, постепенно приводит к потере зуба. Без сомнения, современные технологии протезирования позволяют произвести реконструкцию даже при полном отсутствии зубов. Однако, прогресс современной медицины подвигает исследователей к поиску технологий замещения зубов естественными трансплантатами.

Ткань зуба закладывается на 6-7 неделе внутриутробного развития. На эпителиальной зубной пластинке появляются мелкие выпячивания, называемые зубными зачатками, из которых будет развиваться молочный зуб.

Дифференцировка зубных зачатков начинается с 3 мес. внутриутробного развития, а к началу 5 мес. эмалевый орган утрачивает непосредственную связь с эпителием ротовой полости, хотя остатки зубной пластинки могут длительно сохраняться. Незадолго до этого

клетки зубной пластинки формируют второй эпителиальный зачаток, из которого будет развиваться постоянный зуб (Рис. 4)

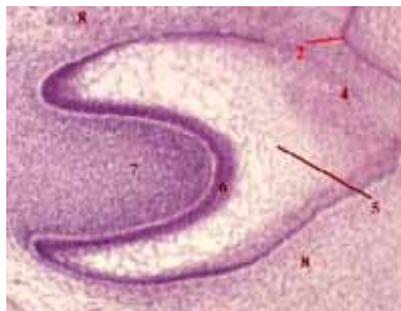


Рис.4. Картина нормальной закладки зуба человека

В настоящее время технологии создания искусственного зуба (дентогенез) методами тканевой инженерии развиваются двумя основными путями. Первый путь – так называемый прямой дентогенез. У эмбриона производится забор закладки зуба (зубная пластинка, эмалевый орган, зубной сосочек). Клеточная масса суспензируется и совместно культивируется. В качестве матрицы используют биodeградируемые полимеры на основе органических кислот (полигликолевой и сополимера гликолевой и молочной кислот), которым придают трехмерную форму зуба. Культура клеток наносится на матрицу, и препарат пересаживается в зубную альвеолу (лунку, в которой находится корень зуба), где под воздействием факторов клеточного и тканевого микроокружения происходит дентогенез.

Второй путь – непрямой дентогенез, при котором развитие происходит внеальвеолярно. После выделения, кокультивирования и нанесения на матрицу клеток закладки зуба тканеинженерная конструкция пересаживается в мягкие ткани, не относящиеся к ротовой полости (сальник, околопочечная клетчатка, подкожная жировая клетчатка) на срок от 20 до 35 недель. По истечении указанного времени происходит образование ткани зуба за счет ближайших межклеточных взаимодействий.

Создание тканеинженерных конструкций для дентиногенеза - реальная перспектива сегодняшнего дня. Основной проблемой можно считать обеспечение кровоснабжения искусственного зуба, так как технология прямого дентогенеза в клинической практике может вызвать ряд неудобств в течение как минимум 30-35 недель, связанных с созданием определенных условий микроокружения для развивающегося зуба. Нельзя не отметить, что создание зуба как органа можно считать прорывом в реконструктивной стоматологии.

Искусственная кожа

Заживление взрослой раны кожи сложно и вовлекает широкий диапазон клеточных, молекулярных, физиологических, и биологических процессов. Для острых, хронических и обширных ран применяются как синтетические, так и естественные материалы. Главный эффект большинства заменителей кожи заключается в том, чтобы способствовать заживлению раны, препятствовать обезвоживанию, попаданию инфекций в рану.

В частности материалы на основе коллагена в форме губки часто используются как трехмерные нерастворимые основы для подготовки искусственной кожи. Коллаген, волокнистый нерастворимый белок, главный элемент кожи, костей и соединительной ткани. При контролируемом гидролизе коллагена получают желатин. Будучи белком, желатин составлен из уникальной последовательности аминокислот. Характерные особенности желатина - высокое содержание аминокислот типа глицина, пролина и гидроксипролина. Структура молекулы желатина: она содержит повторяющиеся последовательности троек глицин-X-Y, где X и Y - часто пролин и гидроксипролин. Эти последовательности ответственны за тройную винтовую структуру желатина и его способности формировать гели. (рис.5)

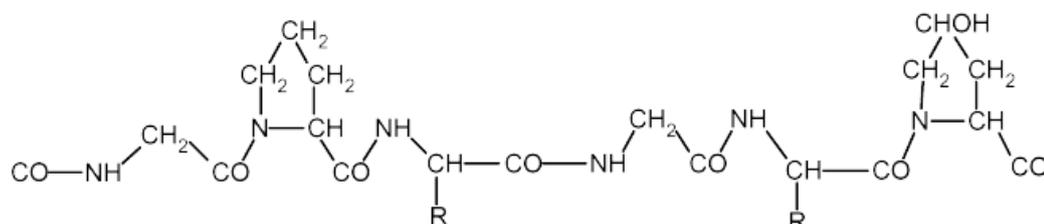


Рис.5 Структура желатина, R- тройка глицин-X-Y, обычно X и Y- пролин и гидроксипролин

Денатурированный коллаген (желатин) используется в медицине как повязка на рану, впитывающий материал для хирургических целей. Известно, что коллаген проявляет свойства антигенности в физиологическом условиях; желатин, как известно, такими качествами не обладает. Было показано, что желатин способен вызывать активацию макрофагов (клеток способных к активному захвату и перевариванию бактерий) и показывает высокий кровоостанавливающий эффект. Наконец, желатин фактически более удобен чем коллаген, потому что трудно приготовить концентрированный раствор коллагена, и, кроме того, желатин намного более экономичен чем коллаген.

Биодеградируемые полимеры, используемые в настоящее время, включают в себя полигликолиды, полилактиды и их сополимеры, коллаген, хитин, желатин. Желатин должен быть сшит. В качестве сшивающих агентов могут быть использованы следующие вещества:

формальдегид, глутаральдегид, растворимые в воде карбоимиды. Токсичность сшивающего агента - одна из основных проблем при создании искусственных биоматериалов. Например, глутаральдегид (известный сшивающий реагент) ядовит даже при концентрации 3.0 ppm.

В данное время в медицине применяются желатин-альгинатные губки. Альгинат, полученный из коричневых морских водорослей - анионный линейный полисахарид. Альгинат обладает свойствами гидрофильности, биологической совместимости, также он относительно экономичен. Он используется в медицине в качестве повязки на рану, а также используется для разработки ткани в формах губок, которые обычно обязаны исчезать («всасываться в тело») после регенерации ткани. Ожидается, что смешанные губки (желатин-альгинат), покажут эффективную активацию макрофага и быстрое увеличения клеток эпителия, а также будут экономически выполнимы.

Такие губки готовят путем смешивания растворов желатина и альгината. Полученный раствор выливают в чашку Петри, заливают жидким азотом и подвергают сублимационной сушке. Полученные пористые губки приведены на рисунке 6.

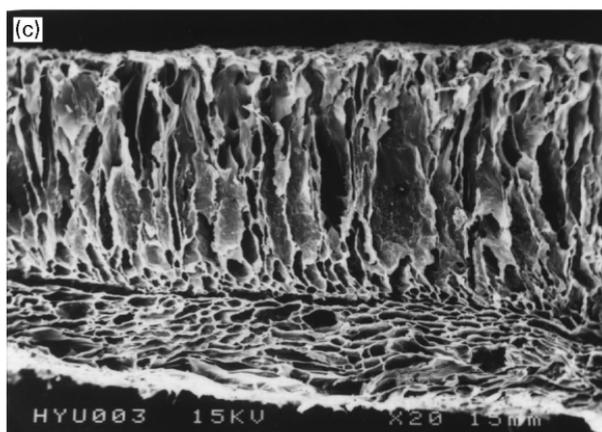
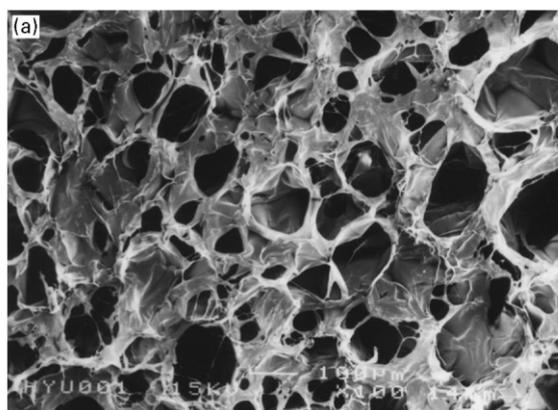


Рис.6 Поверхность(а) и поперечное сечение (с) приготовленной губки

Морфологические исследования сканирующей электронной микроскопии показали связанную структуру пор со средним размером поры приблизительно 0,1 мкм. Этот размер поры облегчил клеточное проникновение в поры.

Полученные губки пропитываются растворами антибиотиков. Губки были опробованы на крысах. Спинные волосы у крыс выбривались, вводились обезболивающие препараты, и на коже спины делался надрез. Полученная рана покрывалась губкой, губкой с антибиотиками, либо марлей с вазелином. По прошествии 5, 12 и 21 дней крыс убивали, кожа в области раны была гистологически исследована. Данные опыта показали, длина восстановленного эпителия на 5 день была больше в случае губки с антибиотиками. Говорят о эффекте пролонгированного действия препарата, антибиотик выводится из губки постепенно за счет «тормозящего» взаимодействия функциональных групп. На 21 день участок раны кожи крысы был почти полностью излечен.

Помимо искусственно создаваемых материалов также применяется биологические, например, свиная кожа.

Тканевая инженерия тонкой кишки.

Синдром короткой кишки (СКК) - заболевание, возникающее при резекции большей части тонкой кишки при ее некрозе в результате ишемии (тромбоз мезентериальных сосудов, некротический язвенный колит), пороках развития, опухолевом поражении (тотальный полипоз кишечника), травмах и аутоиммунных заболеваниях (неспецифический язвенный колит, болезнь Крона). Заболевание сопровождается синдромом неполного всасывания (мальабсорбции), дефицитом поступления в организм основных питательных веществ и минералов. Критической длиной сохранившегося кишечника принято считать от 0,5 до 2 метров. Однако даже потеря более половины его длины приводит к тем или иным серьезным осложнениям (диарея, полифекалия, боли в животе, метеоризм, потеря массы тела, гипопропротеинемия, отеки, судороги, остеопороз и др.). Основная часть пациентов хорошо поддается консервативной терапии (диета, пищевые комплексы). Пациенты, страдающие тяжелой формой недуга вынуждены пожизненно получать специальные питательные смеси и растворы парентерального питания. В результате чего они испытывают выраженный дискомфорт, социальную дезадаптацию, что даже может привести к суицидальным попыткам. Помочь людям, страдающим СКК в настоящее время можно только путем удлинения функциональной ее части. В клинической практике применяют суживающую энтеропластику, антиперистальтическую ауто-трансплантацию или трансплантацию кишечного сегмента. Все эти операции направлены на увеличение всасывающей поверхности кишки. Со стороны самой кишки происходят адаптивные изменения,

направленные на увеличение площади поверхности соприкосновения с пищевым комком. Крипты становятся более ветвистыми и увеличиваются в размере, что увеличивает поверхность всасывания. Однако это не приводит к полной компенсации, и заболевание прогрессирует за счет хронического дефицита питательных веществ.

Исследования по разработке технологий, с помощью которых можно было бы получить функционирующую кишку, берут свое начало с работ Когана (1979). Исследовалась возможность использования синтетических трубчатых конструкций для восполнения длины тонкой кишки. Для изготовления трубок использовался синтетический материал "Дакрон". Под данной торговой маркой представлены волокна полиэстера, которые получают по реакции конденсации этиленгликоля и терефталевой кислоты. Данный материал характеризуется значительной прочностью на растяжение, не ползет как в сухой, так и мокрой средах, устойчив к химическим воздействиям.

Трубки из дакрона имплантировались кроликам после поперечного рассечения кишки. Было отмечено, что синтетические материалы действовали как мосты, по которым с краев интактной кишки происходила эпителизация и колонизация фибробластами. Последние дифференцировались в миофибробласты и формировали мышечную стенку. Сосудистая сеть развивалась из аркад тощекишечных сосудов и брюшины. Однако основным недостатком подобных конструкций оказалась их ригидность, отсутствие перистальтики и рубцевание, что приводило к стенозам и кишечной непроходимости у лабораторных животных.

Понимание того, что матрица-носитель должна быть деградируемой, привело к использованию в эксперименте материалов на основе полимеров органических кислот (полигликолат, полилактат) и естественных биоматериалов на основе коллагена, которые, после выполнения своей функции, элиминировались в организме. Внимание ученых было обращено на подслизистую основу кишки, которая, кроме того, что является естественным кишечным образованием, обладает ещё и достаточной плотностью и прочностью. Подслизистая основа тонкой кишки содержит оптимальное сочетание белков адгезии, таких как ламинин, интегрин и коллаген I, III, IV, V типов, а так же ростовые факторы (FGF-2, VEGF) и другие, биологически активные вещества, поддерживающие пролиферацию и дифференцировку клеток. В качестве тестирования этого материала использовалась методика «заплаты». Вместо участка резецированной стенки кишки накладывалась «заплата» (12 кв.см.) из бесклеточной подслизистой основы и окутывалась сальником или брюшиной. Через 2 недели отмечалась активная миграция в биоматериал фибробластов и образование сосудистой сети внутри матрицы. К 4 неделе происходила эпителизация «заплаты» за счет разрастания эпителия с неизмененных участков кишечной стенки и формирование примитивного мышечного слоя. К 6 неделям происходила полная эпителизация кишечной стенки и частичная деградация

биоматериала. На 12 неделе можно было обнаружить небольшой толщины мышечный слой по всей поверхности «заплаты», а 24 неделям происходила полная регенерация кишечной стенки (Рис. 7).

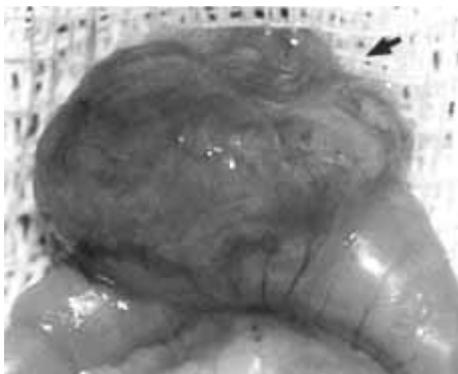


Рис 7.«Заплата» из бесклеточной подслизистой основы тонкой кишки через 3 месяца после имплантации. Разница между участком имплантации и неизменной слизистой определяется с трудом. (заимствовано из Chen MK, et al. J Surg Res 2001; 99: 352-358, с изменениями)

Попытки использования бесклеточной подслизистой основы кишки в виде трубчатых конструкций не привели к таким же хорошим результатам, как при использовании методики наложения "заплаты". Только к 6-й неделе происходила 40% эпителизация конструкции. Медленная регенерация эпителия за счет области анастомозов интактной кишки приводила к её истощению и разрастанию преимущественно соединительной ткани, что приводило к образованию стенозов. Потеря герметичности конструкции происходила в результате лизиса участков матрицы, не защищенной от пищеварительных ферментов эпителиальной выстилкой (рис. 8).

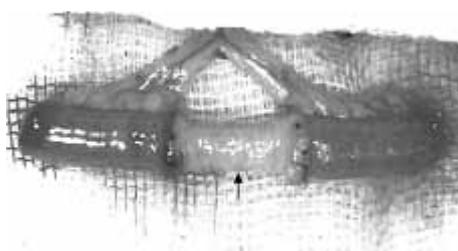


Рис.8 Кишечная ставка из бесклеточной подслизистой основы тонкой кишки через 8 недель после имплантации. Определяется резкое различие между интактной кишкой и вставкой. (заимствовано из Wang ZQ, et al. J Pediatr Surg 2003; 38: 1596-1601, с изменениями)

В 1998 году исследовательской группой во главе с Джозефом П. Ваканти (Joseph P. Vacanti) была создана первая модель тканеинженерной тонкой кишки, в состав которой в качестве основы входила биodeградируемая матрица из PGA (сополимера молочной кислоты и лизина) и кишечный эпителий. Кишечный эпителий обладает самой высокой потенцией к

регенерации и содержит кроме главных эпителиальных клеток еще и большое количество регионарных стволовых - базальных клеток. Базальные эпителиальные клетки могут быть получены из слизистой и успешно культивированы *in vitro*, что и было выполнено группой Ваканти. У 7 дневных крыс-доноров забрали образцы кишечного эпителия и культивировали до достижения достаточного количества клеточной массы. Трубочатое образование – матрица, была создана из нетканого материала на основе PGA. Эпителиальные клетки были нанесены на биоматрицу и внедрены в сальник крыс-реципиентов. Через 10 недель, в сальнике, было обнаружено кистозное образование, стенку которого составлял мышечный слой и кишечный эпителий, образовавший примитивные складки и ворсинки. Формирование мышечного слоя авторы связывают с дифференцировкой фибробластоподобных клеток входящих в состав жировой ткани сальника. Кисту анастомозировали с тонкой кишкой и она функционировала на протяжении жизни животного. В результате эксперимента была показана возможность получения полноценного кишечного сегмента методом тканевой инженерии (Рис. 9).

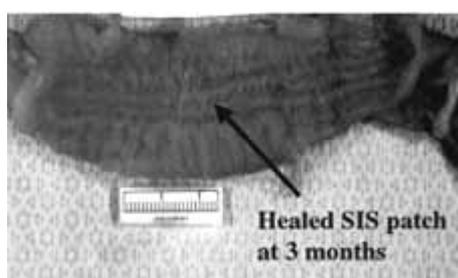


Рис.9 Участок искусственной кишки после анастомозирования с тонкой кишкой. (заимствовано из Kim SS, et al. J Surg Res 1999; 87: 6-13, с изменениями)

В дальнейшем, исследования были направлены на оценку функции искусственного кишечного сегмента. Так, было показано отсутствие формирования нервных окончаний и межмышечных ганглиев кишки, что, по всей видимости, не будет способствовать активной перистальтике. Неогенез лимфатических сосудов наблюдали уже через 10 недель. Кроме того, было отмечено появление лимфоидной ткани в виде фолликулов. При моделировании СКК у крыс, с последующим подключением к пищеварению созданной в сальнике искусственной кишки, наблюдалось увеличение массы животных по сравнению с контролем, а так же повышение концентрации в крови витамина В12. Также было отмечено увеличение продолжительности жизни животных, что в совокупности свидетельствует об участии вновь созданного кишечного сегмента в пищеварении и всасывании питательных веществ.

Однако, отсутствие нервной ткани в толще мышечной стенки может привести к низкой перистальтической активности сегмента и замедлению продвижения пищевого комка, что благоприятно для всасывания, но может вызвать явления непроходимости. Несмотря на имеющиеся недостатки, созданный с помощью технологий тканевой инженерии сегмент тонкой

кишки продлевает жизнь и значительно улучшает её качество у лабораторных животных с моделью СКК. Известно, что даже незначительные по размерам отрезки функционирующей поверхности слизистой кишки играют огромную роль в улучшение состояния организма при этой патологии.

Биоматериалы для хирургии - нити.

Выбор шовного материала для использования в каждом отдельном случае производится в соответствии с состоянием пациента, опытом хирурга, техникой операции и размерами раны. Основными критериями выбора материала являются его механические характеристики, способность к резорбции, биосовместимость (тканевая реакция). Нити, применяемые в хирургии можно классифицировать по их происхождению (природные, синтетические), по способности к рассасыванию и области применения.

Начнем рассмотрение с синтетических нитей. В основном, в их состав входят полиэстер, полигликоли, полиамиды, тефлон, полипропилен и другие полимеры. В кардиохирургии и ортопедии также используют нити из хирургической стали (сплав с Cr, Ni). Стальная проволока может применяться в комбинации с различными компонентами, изготовленными из разнообразных материалов, обеспечивающими возможность ее применения в качестве поддерживающего материала либо для наложения сухожильных швов. Стальная проволока обуславливает минимальную воспалительную реакцию окружающих тканей.

Плетеные нити из волокон полиэстера (полиэтилентерефталата, $(C_{16}H_8O_4)_n$) не имеют противопоказаний и являются нерезорбирующимся хирургическим шовным материалом. Полиэстер обуславливает вначале лишь небольшую воспалительную реакцию со стороны окружающих тканей, за которой следует постепенное, медленное формирование соединительной капсулы. Полиэстер можно применять во всех областях оперативной хирургии. Для получения гладкого шовного материала, нити из полиэстера покрывают тефлоном (Суполен). Благодаря покрытию снижается до минимума капиллярное действие нити и облегчается как протягивание нити сквозь ткани, так и вязание узлов. Ввиду его гидрофобных свойств и устойчивости к старению Суполен пригоден для вшивания имплантатов и протезов.

Другими представителями нерезорбируемых синтетических нитей выступают Нейлон, Резолон, Супрамид. Нейлон состоит из полиамида 6/6, который возникает в результате реакции поликонденсации гексаметилендиамина и адипиновой кислоты. Резолон состоит из полиамида 6, возникающего в результате реакции полимеризации ϵ -капролактама. Супрамид представляет собой волокно из нейлона, покрытое для гладкости полиамидом 6. Данные нити обуславливают вначале лишь небольшую воспалительную реакцию, за которой следует постепенное, медленное формирование соединительнотканной капсулы. Хотя эти материалы не

рассасываются, однако за счет прогрессирующего гидролиза в условиях живого организма со временем возможно постепенное снижение прочности на разрыв. Поэтому данные нити не пригодны для применения по таким показаниям, которые требуют длительной стабильности шовного материала.

Рассмотрим еще один нерассасывающийся материал Мопилен. Он состоит из изотактического полипропилена. Мопилен может применяться в сердечно-сосудистой хирургии ввиду его антитромбогенных свойств. Кроме того, этот материал широко применяется в пластической хирургии.

Из резорбируемых шовных материалов применяют ПГА-Ресорбу, ПГА Resoquick и другие. ПГА Ресорба представляет собой синтетический, стерильный хирургический рассасывающийся шовный материал, состоящий из полимера гликолевой кислоты. Плетеная нить снабжена покрытием из резолактона (смесь стеарата кальция и поликапролактона). Это покрытие обеспечивает инертность материала. Постепенное снижение прочности на разрыв шовного материала ПГА Ресорба является следствием гидролитического разложения гликолевой кислоты, которая, которая постепенно рассасывается и метаболизируется в организме. В ходе резорбции вначале снижается прочность на разрыв, затем уменьшается масса. При стандартных испытаниях *in vitro* получены следующие показатели резорбции (Таблица 3):

Таблица 3.

время старения	Остаточная прочность на разрыв (в % от исходной прочности на разрыв)
7 дней	80%
14 дней	50%
21 дней	25%

Так как ПГА Ресорба способна рассасываться, то этот материал не должен применяться для ушивания ран, на края которых воздействуют значительные растягивающие усилия.

Шовный материал ПГА Resoquick состоит из полимера гликолевой кислоты. Отдельные элементарные нити (филаменты) материала ПГА Resoquick диаметром 0,015 мм экструдированы, связываются в пучки и подвергаются антикапиллярному плетению.

Специальное покрытие из материала Резолактон (Resolacton) тонким слоем покрывает пучок волокна и благодаря минимальному поверхностному трению обеспечивает значительное снижение пиящего эффекта и инертность нити. Характеризуется инертностью, апиrogenностью и отсутствием антигенов. Покрытие не влияет на процессы заживления в ране, выводится из организма в процессе обмена веществ.

Вначале шовный материал ПГА Resoquick вызывает незначительную воспалительную реакцию тканей, а затем медленное инкапсулирование соединительной ткани.

Уже через семь дней прочность при разрыве шовного материала ПГА Resoquick составляет 50% от первоначального значения. Через 14-21 день - в зависимости от диаметра волокна - прочность при разрыве уже настолько мала, что не поддается измерению. Примерно через 42 дня материал полностью рассасывается путем гидролиза на мономеры. Гликолевая кислота под действием энзимов расщепляется на CO_2 и H_2O).

Как и при использовании других шовных материалов, необходимо следить за тем, чтобы нить не была повреждена в процессе использования, ее нельзя гнуть или скручивать.

В тканях с плохим кровоснабжением при использовании рассасывающегося шовного материала следует проявлять осторожность, так как в подобных случаях может возникнуть отторжение нити и замедленное рассасывание. Внутрикожно шовный материал должен располагаться как можно более глубоко. ПГА Resoquick нельзя применять при операциях на престарелых, ослабленных пациентах или истощенных пациентах с пониженным питанием. Его не применяют также на пациентах с замедленным заживлением ран.

Из шовных материалов природного происхождения можно выделить Резокат, льняные и шелковые нити.

Резокат представляет собой стерильный шовный материал для применения в хирургии. Он состоит из очищенной соединительной ткани слизистой оболочки кишки крупного рогатого скота. Резокат простой не подвергается дополнительной обработке с целью замедления рассасывания, Резокат хромированный подвергается дублению солями трехвалентного хрома. Кроме коричневой окраски, эта обработка обуславливает также замедление рассасывания материала после его имплантации в ткани.

Резокат обрабатывают водно-спиртовым раствором, что позволяет достигнуть оптимальной мягкости материала после его имплантации в ткани. После имплантации Резоката проявляется типичная реакция на инородное тело с умеренно выраженным воспалительным компонентом. В дальнейшем протеолитические ферментные процессы (например, с участием коллагеназы) приводят к уменьшению толщины и массы имплантированного шовного материала. Скорость рассасывания и уменьшение прочности на растяжение зависят от действия различных факторов. Наиболее значительными из них являются два следующих: инфекция в тканях с воспалительными изменениями может приводить к ускоренному рассасыванию Резоката; в тканях с высокой активностью протеолитических ферментов (желудок, влагалище и шейка матки) Резокат рассасывается существенно быстрее.

Шелковые нити плетут из фибрина волокон шелка-сырца. Материал снабжен восковым покрытием. Это позволяет снизить капиллярность нитей и получить гидрофобные нити с гладкой поверхностью. Как и шелковые, льняные нити являются нерезорбируемыми,

однако за счет прогрессирующей деградации крученных нитей в условиях живого организма со временем возможно постепенное снижение прочности на разрыв.

Искусственные хрусталики глаза

Раздражители

Широкое применение полимерных материалов в медицинской практике для изготовления имплантатов вызывает необходимость интенсификации исследований в области биологии, физики и химии как самого объекта - полимерного имплантата, так и его взаимодействия с окружающими тканями и воздействия на них и организм человека в целом. Организм человека - это саморегулирующаяся система, реагирующая как единое целое на различные изменения внешней среды, способная приспосабливаться или противодействовать её влияниям, благодаря различным механизмам, обеспечивающим относительно постоянные условия существования и возможность адаптации организма к различным раздражителям. Раздражителем клетки, органа или организма в целом может оказаться любое изменение внешней среды или внутреннего состояния организма, если оно достаточно велико, возникло достаточно быстро или продолжается достаточно долго, то есть системы организма реагируют в основном не на стационарные величины, а на изменяющиеся во времени, так порог раздражения, зависит не только от свойств и физиологического состояния ткани, но и длительности действия раздражителя и нарастания его силы, то есть способа нанесения раздражения.

Известны кривые силы-времени воздействия на ткани электрического тока и кривые аккомодации (аккомодация - приспособление мышечной и нервной тканей к действию медленно нарастающего по силе раздражителя.) из которых следует, что ток ниже некоторой минимальной силы или напряжения не вызывает возбуждения, как бы длительно он не действовал, а также при уменьшении крутизны нарастания тока ниже некоторой минимальной величины потенциал действия вообще не возникает, до какой бы конечной силы не увеличивался ток (рис.10).

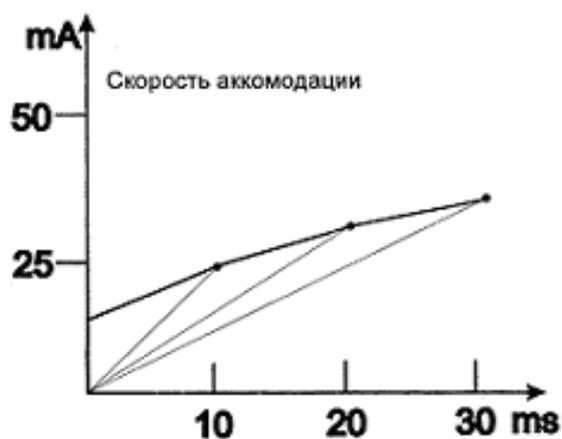


Рис.10. Скорость аккомодации

Подобные зависимости существуют и для других типов раздражителей, а именно термических, механических, химических, которыми, например, могут быть вещества, содержащиеся в имплантате в несвязанном состоянии и способные диффундировать в окружающие ткани, причем скорость диффузии этих веществ будет определяться подвижностью полимерной матрицы имплантата и будет значительно выше у эластичных имплантатов, чем у твердых. Для разных органов, тканей и в целом организма человека или разных людей порог раздражения для данного воздействия будет разным и возможно найдется человек, для которого его значение близко к нулю. Поэтому основополагающим условием, определяющим качество имплантата и совместимость его с тканями живого организма, является отсутствие выделений каких бы то ни было веществ из имплантата в окружающую среду.

В России на предприятии «Репер» (Н.Новгород) изготавливают искусственные полимерные хрусталики для глаз «ТИОЛ» и «Флекс» (твердых и упруго-эластичных интраокулярных линзы). Оптическая часть этих хрусталиков состоит из полиметилметакрилата.

Оценка качества имплантата

Существует мировая система оценки качества имплантатов и их соответствия, предъявляемым к ним требованиям (ISO), которая позволяет производить отбор имплантатов по совокупности различных методик: санитарно-химических исследований водных вытяжек из образцов изделий - контроль уровня pH и УФ - спектроскопия; исследование цитотоксичности по клеточному тесту; исследование раздражающего эффекта на слизистые оболочки; имплантационные тесты; гистологические исследования; исследования сенсibiliзирующего и мутагенного эффектов и др., которыми занимаются специализированные лаборатории (табл.4).

Таблица 4. Методики для оценки качества имплантата

Краткий перечень методик по ИСО
Экстракция в сочетании с УФ-спектроскопией
Контроль уровня pH
Цитотоксичность
Раздражающий эффект на слизистые оболочки
Имплантационный тест
Гистологический тест
Мутагенный эффект
Сенсибилизирующий эффект

Однако практически всегда уже на стадии изготовления имплантата необходимо иметь методики, по которым быстро и надежно можно оценить его качество (табл.5).

Таблица 5. Перечень методик, используемых для контроля качества ИОЛ

Экстракция в сочетании с УФ-спектроскопией
Электропроводность водного раствора
Кипячение в камерной влаге
Длительная выдержка в водной среде
Выдержка в концентрированных растворах щелочей
Электронный парамагнитный резонанс
Определение температуры стеклования полимера
Определение конечного показателя преломления материала
ИК-спектроскопия

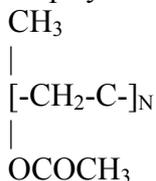
1. УФ-спектроскопия

УФ - спектроскопия может применяться для экспресс-анализа качества имплантата практически из всех известных на сегодняшний день полимерных материалов. Необходимость использования метода УФ - спектроскопии доказана на многих примерах полимерных имплантатов, а ее достаточность и объективность подтверждает анализ результатов полученных другими методами исследования объектов. Исследуя УФ-спектры водной вытяжки из образцов изделий, полученных по разным технологиям и из материалов, сильно отличающихся по своей природе, физико-химическим, физико-механическим и химическим свойствам, с большой долей достоверности можно сказать, что если уровень оптической плотности водной вытяжки в диапазоне длин волн 200 - 210 нм превышает некоторое минимальное значение (по стандарту ИСО 0,15, то данный имплантат не безопасен для организма человека и в послеоперационном или более отдаленном периоде есть вероятность возникновения воспалительных реакций или возникновения вторичной катаракты.

Для контроля качества материала имплантата на стадии изготовления изделий этот метод может быть одним из основных, следует только для каждого конкретного материала определить свои допустимые значения оптической плотности водной вытяжки. Кроме того, следует отметить, что исследования имплантатов из одного и того же полиметилметакрилата (ПММА) от разных производителей показали - уровень оптической плотности экстракта может меняться в достаточно широких пределах, что, видимо, связано, во-первых, с различными

технологиями изготовления изделия и, как следствие - различным содержанием остаточного мономера ММА в полимерной матрице; во-вторых, с различной чистотой исходных компонентов, от которой также зависит технологическая устойчивость перерабатываемого полимера.

Формула ПММА:



Зная химическое строение ПММА и его свойства, который представляет собой линейный полимер, растворимый практически во всех органических растворителях, термопласт, перерабатываемый в изделия методами прессования и литья под давлением, можно сказать, что в процессе его переработки, как правило, образуется высокотоксичный мономер - ММА, который впоследствии выделяется из изделия и приводит к возникновению токсической реакции. Что касается анализа имплантатов, изготовленных из других полимеров, необходимо также знать их химический состав, условия изготовления или переработки в изделие (температуру, которая должна быть не выше температуры деструкции материала; наличие примесей и их состав), чтобы точно установить допустимые пределы оптической плотности водной вытяжки. Однако, как говорилось уже выше, каждый человеческий организм имеет свои индивидуальные особенности и при повышенной чувствительности к действию раздражителей могут проявиться нежелательные воспалительные процессы, в связи с чем необходимо процесс выделения каких бы то ни было веществ из имплантата свести к нулю как совершенствованием самого материала имплантата, так и технологии их изготовления.

2. Измерение электропроводности

Методикой контроля имплантата на стадии его изготовления может служить измерение электропроводности той же водной вытяжки, что готовится для контроля УФ - спектроскопией по методике: 1 линза на 1 мл воды и выдержка при 60°C в течение 3 часов. Метод обладает большой чувствительностью и позволяет определять электропроводность разбавленных растворов, обусловленную движением катионов и анионов, отличающихся подвижностью, в широком диапазоне температур и концентраций растворенных веществ, в данном случае экстрагированных из имплантата. При заданной температуре электропроводность раствора будет зависеть от его концентрации, как правило, чем выше концентрация, тем выше электропроводность. Измеряется брутто-эффект, так как выделение индивидуальных веществ невозможно (табл.6).

Таблица 6. Электропроводность водного раствора

Проба	Электропроводность, мсименс/м	Визуальное качество	Клинический результат
1-Н ₂ О	0,67		
2-ТИОЛ	3,0	Линза чистая	Реакций нет
3-ТИОЛ	5,1	Линза чистая	Реакций нет
4-ТИОЛ	14,0	Растрескивание	Воспалительная реакция
5-ТИОЛ	6,5	Микротрещины	Воспалительная реакция
7-Флекс	2,8	Линза чистая	Реакций нет
8-Флекс	5,6	Линза чистая	Реакций нет
9-Флекс	8,9	Микровключения	Воспалительная реакция

Данные, полученные методом измерения электропроводности водной вытяжки, хорошо согласуются с данными по УФ - спектроскопии и данными из клиники.

3. Кипячение в камерной влаге

Для выявления дефектов морфологического уровня можно применить методику кипячения имплантата в жидкостях, имитирующих среду эксплуатации - для ИОЛ камерную влагу глаза (табл.7,8).

Таблица 7. Состав модельной жидкости

Испытания в жидкости, имитирующей камерную влагу		
На 1 л дистиллированной воды	NaCl -	8,3 г
	CaCl ₂ -	0,15 г
	MgSO ₄ -	0,6 г
	Fe ₂ (SO ₄) ₃ -	0,01 г
	Альбумина 5% -	2,8 мл
	Глобулина 10% -	0,6 мл
	"Ампиокс" -	0,1 г

Таблица 8. Результаты кипячения

Проба	Дефекты	Отложения белков	Клинический результат
1-ТИОЛ	нет	нет	+
2-ТИОЛ	Микрообразования, пленка	Адсорбция (плотная, неудаляемая пленка)	-
3-ТИОЛ	Микрообразования	Адсорбция (разрозненные очаги)	-
4-Флекс	нет	нет	+
5-Флекс	Микрообразования, пленка	Адсорбция (плотная, неудаляемая пленка)	-
6-Флекс	Микрообразования	Адсорбция (разрозненные)	-

При анализе дефектов в линзах, обнаруженных после кипячения в камерной влаге было установлено, что образование подобных дефектов в линзах из различных материалов связано с наличием гидрофильных областей, по которым идет дефектообразование. Причинами возникновения таких областей может быть наличие примесей, содержащихся в исходных компонентах (олигомерах и мономерах) или вводимых в них для достижения определенных свойств (пластификаторы, катализаторы, сенсбилизаторы, инициаторы, ингибиторы и др.), а также возникновения микровключений нового полимера, отличающихся по показателю преломления. В любом случае, если в линзе выявились дефектные области, её применение невозможно, так как в процессе эксплуатации они не только не исчезнут, но будут укрупняться или количество их будет увеличиваться, что в итоге приведет к помутнению линзы, растрескиванию и нарушению ее целостности. Но этот процесс отсутствует, когда уровень выделений по УФ - спектроскопии меньше 0,15, а электропроводность не более 5 миллिसимен/м.

4. Длительное выдерживание в дистиллированной воде

Появление кажущихся включений - блесков различной формы и размера - было обнаружено и при длительном выдерживании ИОЛ в дистиллированной воде при температуре эксплуатации имплантата или выше (40-100°C) (рис.11).

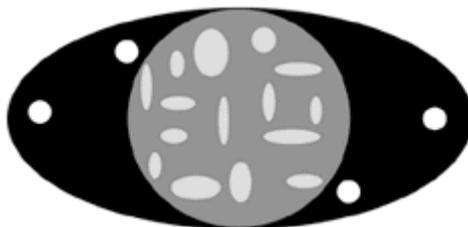


Рис.11 Общий вид ИОЛ-Флекс с дефектными зонами в оптической части

Эти образования особенно хорошо видны при малых углах падающего света даже при небольших увеличениях (8-10 крат). Образование такого рода дефектных областей не связано с наличием каких-то инородных тел в ИОЛ, поскольку процесс образования их обратим - они исчезают, если ИОЛ высушить от воды. Но процесс их образования отсутствует, когда уровень выделений по УФ-спектроскопии меньше 0,15, а электропроводность не более 5 миллисимен/м.

5. Выдержка в растворе щелочи

Для оценки качества имплантата можно также использовать методику выдержки ИОЛ в концентрированном растворе щелочи, например, 10% NaOH (рис.8). При этом, на поверхности ИОЛ может происходить образование "белесого" осадка, природа которого заключается в том, что концентрированная щелочь является осадителем для выделяющихся из ИОЛ веществ. Но этот процесс также отсутствует, когда уровень выделений по УФ - спектроскопии меньше 0,15, электропроводность не более 5 миллисимен/м и в толще линзы не обнаружено визуальными методами наблюдения кажущихся включений (табл.9).

Таблица 9. Испытания в концентрированном растворе щелочи - 10% NaOH

Проба	Визуальное качество	Клинический результат
1 - ТИОЛ	Линза прозрачная	Реакций нет
2 - ТИОЛ	Линза прозрачная	Реакций нет
3 - ТИОЛ	Помутнение, плотная неудаляемая	
4 - Флекс	Линза прозрачная	Реакций нет
5 - Флекс	Линза прозрачная	Реакций нет
6 - Флекс	Помутнение, плотная неудаляемая	

6. Электронный парамагнитный резонанс

Одной из информативных и обязательных при контроле качества имплантатов, это метод электронного парамагнитного резонанса, регистрирующий наличие в системе свободных радикалов.

В процессе полимеризации, а также обработки полимеров (механической, радиационной) происходит образование и накопление свободных радикалов, которые в дальнейшем могут сыграть как положительную, так и отрицательную роль при использовании готового изделия. Фрагменты макромолекул, способные диссоциировать на свободные радикалы имеются в любом микрообъеме полимера.

Во всех случаях, когда в имплантате были обнаружены свободные радикалы, по всем вышеперечисленным методикам ИОЛ также давала отрицательный результат. Были разработаны способы блокировки, они позволяют уменьшить содержание радикалов в ИОЛ до неопределяемых методом ЭПР величин. После проведения таких процедур ИОЛ не выделяют никаких веществ и становятся безопасными для имплантации (табл.10).

Таблица 10. Метод электронного парамагнитного резонанса

№	Концентрация радикалов,	Оптическая плотность водной вытяжки	Электропроводность,	Наличие дефектов		
				Камерная влага	Вода	Щелочь

п./п.	10 ³ моль/л	200 нм	ms/m			
ТИОЛ блок	Не обнаружено	0,036	2,6	нет	нет	нет
ТИОЛ	5,3	0,23	7,2	Очаговая адсорбция, микрополости	Микрополости	Опалесценция
ТИОЛ	4,2	0,184	8,1	Очаговая адсорбция, микрополости	Микрополости	Опалесценция
Флекс блок	Не обнаружено	0.062	2,6	нет	нет	нет
Флекс	3,0	0,31	6,8	Очаговая адсорбция, микрополости	Микрополости	Опалесценция
Флекс	1,1	0,175	6,2	Очаговая адсорбция, микрополости	Микрополости	Опалесценция

Биополимеры

В результате проведенных исследований ИОЛ по вышеперечисленным методикам были установлены достаточно интересные закономерности, имеющие принципиальное значение не только для создания высококачественного хрусталика, но и других имплантатов, для которых важнейшим требованием является их биологическая совместимость с тканями живого организма. На данный момент нет такого материала, из которого бы не происходило выделений каких-то веществ в водные среды. Некоторым фирмам-изготовителям удается максимально понизить уровень выделения различных веществ в водные среды, но, как правило, этот процесс не отличается достаточной стабильностью. Для того, чтобы исключить возможность возникновения процессов такого рода, необходимо понять в чем заключается природа этого явления, и каковы механизмы процессов выделения веществ из имплантатов.

Существует три различные конфигурации молекулярной структуры полимеров: линейная, разветвленная и пространственно-сшитая. (рис.12)

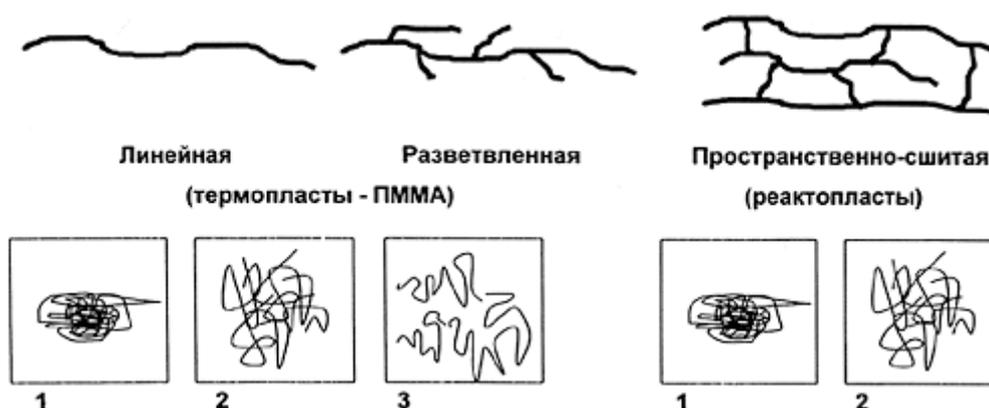


Рис.12 Различные конфигурации молекулярной структуры полимера

1 - твердый полимер непосредственно после добавления в растворитель

2 - полимер, набухающий в растворителе (выделение несвязанных продуктов)

3 - сольватированные и агрегированные молекулы полимера

Линейное и разветвленное строение макромолекул полимера и отсутствие между ними химических связей определяют хорошую растворимость полимеров этого типа, в частности ПММА, в органических растворителях, а также пластичность при температурах выше температуры стеклования (T_g). В отличие от линейных пространственно-сшитые трехмерные полимеры получают в результате полимеризации би- и полифункциональных соединений, которые имеют в структуре молекул две и более активные двойные $C=C$ связи. Образование единой трехмерной сетки происходит за счет того, что во время полимеризации одна и та же молекула олигомера может прореагировать с двумя соседними молекулами. Эти молекулы связаны в свою очередь с уже более удаленными отдельными молекулами или целыми блоками. Таким образом, макромолекулярные цепи соединяются между собой при помощи химических связей и молекулярный вес таких полимеров практически равен весу изделия. Благодаря наличию прочной химической связи между цепями, изделия с сетчатой структурой не растворяются в органических растворителях, а лишь ограниченно набухают. Следует отметить, что и в случае когда в полимерах есть остаточное содержание мономеров и при их растворении будет происходить выделение несвязанных продуктов в раствор. Однако количество несвязанных продуктов будет всегда ниже в случае полимеров, полученных полимеризацией бифункциональных мономеров или олигомеров в 2,5 раза, а трифункциональных - в 1,25 раза меньше по сравнению с линейными и разветвленными полимерами. То есть пространственно-сшитые полимеры имеют преимущество в выборе их для изготовления имплантатов.

Также говорят о «неклассическом» механизме растворения полимеров, когда процесс выделения веществ из ИОЛ в водных средах представляет собой нечто иное, как процесс деполимеризации полимерного материала, происходящий на границе раздела полимер - водный раствор (рис. 13).



Рис.13 Механизм деполимеризации

Вероятнее всего, на границе раздела происходит синхронно как деполимеризация полимера в твердой фазе, так и образование нового полимера в жидкой фазе. Таким образом, происходит как бы растворение полимера, но по механизмам, которые практически не

обсуждались в литературе. Принципиальное значение в этом процессе имеет наличие свободных радикалов в полимере, которые образуются в процессе полимеризации. Если воздействовать на ПММА ионизирующим или УФ - излучением, то это приводит к статистическому разрыву основной цепи полимера, протекающему по радикальному механизму. Практически всегда процесс деполимеризации связан с выделением мономера, причем это может быть

- 1) мономер, образующийся при деполимеризации концевых радикалов;
- 2) захваченный при полимеризации остаточный мономер;
- 3) мономер, получающийся при термодеструкции по закону случая.

Образование "белесого" осадка на поверхности ИОЛ можно рассматривать как следствие осаждения нового выделяющегося из ИОЛ полимера. Появление "блесток" в объеме ИОЛ - как следствие возникновения микровключений нового полимера в хрусталике, отличающихся по показателю преломления. Чтобы избежать выделения каких бы то ни было веществ из имплантатов в окружающую среду, необходимо в первую очередь полностью заблокировать содержащиеся в полимерных матрицах свободные радикалы., например химической стерилизацией окисью этилена.

Заключение

О биотехнологии начали всерьез говорить в последней четверти XX столетия, когда стало очевидным ее глобальное значение для человечества и природы в целом. Биотехнология происходит от греческих словосочетаний bios - жизнь, teché - мастерство, logos - изучение. Сегодня она, как наука, интегрирует в себе генетику, молекулярную - и микробиологию, химию, физику, эмбриологию, вирусологию, физиологию, квантовую электронику, кибернетику и другие направления. Поэтому биотехнологию считают детищем двадцатого века, хотя ее истоки берут начало в глубокой древности, когда человек использовал методы биотехнологии при выпечке хлеба, виноделии и изготовлении молочнокислых продуктов, сыров, кумыса, лосьонов, мазей и других. Это можно считать первым эмпирическим этапом зарождения биотехнологии, которая прошла еще несколько этапов до наших дней, прежде чем мы подошли к более сложному направлению биотехнологии - биоинженерии, позволяющей искусственно синтезировать лекарственные вещества, аминокислоты, белки, ферменты, гены, определять первичную структуру генераторов электрохимического потенциала живых клеток, получать полиплоиды, биогумус, биогаз, гибридомы, секретирующие моноклональные антитела, осуществлять генетические манипуляции с наследственными клетками и эмбрионами, клонировать и копировать живые организмы трансплантировать органы и ткани, получать

искусственные продукты питания с запрограммированными биотехнологическими и лечебными свойствами и т.п. Можно сказать, что биотехнология революционизировала массу полезных для человека направлений, привела к познанию сущности живого, возможности изменения и исправления его генетической программы, открыла пути создания, по существу, нового поколения живых организмов доселе неизвестных в природе, заложила основы для освобождения человека, животных и растений от многих заболеваний, способствовала улучшению экологической ситуации на планете. Решение столь серьезных проблем позволяют ставить биотехнологию в ряд величайших достижений человечества, экономическое и социальное значение которого трудно предвосхитить.

Список литературы

1. M. Mizunuma, «Experience in repair utilizing artificial skin for exposed bone surfaces», *Eur J Plast Surg* 23 (2000), 305–308.
2. Young Seon Choi, «Study on gelatin-containing artificial skin: I. Preparation and characteristics of novel gelatin-alginate sponge», *Biomaterials* 20 (1999) 409-417.
3. Sung Ran Hong, «Study on gelatin-containing artificial skin: IV. A comparative study on the effect of antibiotic», *Biomaterials* 22 (2001), 2777-2783.
4. Sang Bong Lee, «Bio-artificial skin composed of gelatin and (1→3), (1→6)-β-glucan», *Biomaterials* 24 (2003), 2503–2511.
5. Sizie O. Rogero, «Biocompatibility Study of Polymeric Biomaterials», *Artificial Organs*, 27(5) (2003), 424–427.
6. Minoru Ueda, «Tissue Engineering Research in Oral Implant Surgery», *Artificial Organs*, 25(3) (2001), 164–171.
7. Joon B. Park, «Biomaterials», Plenum Press.
8. Волков А., «Перспективы создания зуба методами тканевой инженерии»
9. Викторова Е.А., «Искусственные хрусталики глаза: материалы и проблемы их биосовместимости», материалы семинара "Биоматериалы для искусственных органов", 2000.
10. Компаниец О., «Трансплантология. Краткий исторический очерк».
11. Волков А., «Тканевая инженерия тонкой кишки».
12. Hench L. «Bioceramics» *J. Amer. Ceram. Soc.* 81(7) (1998), 1705-1728
13. Вересов А.Г., Путляев В.И., Третьяков Ю.Д. «Достижения в области керамических биоматериалов» *Рос. Хим. Журнал.* 94(6) (2000), 32-46.
14. Быков В.П. «Цитология и общая гистология». СПб.: СОТИС, 1999. 520 с.

15. Suchanek W., Yashimura M. «Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants» J. Mater. Res. 13(1) (1998) 94-117.
16. Fernandez E., Gil F.J., Ginebra M.P., Driessens F.C.M., Planell J.A., Best S.M. «Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part I: solution chemistry» J. Mater. Sci. Mater. Med. 10 (1999), 169-176.
17. Bermudez O., Boltong M.G., Driessens F.C.M., Planell J.A. «Compressive strength and diametral tensile strength of some calcium-orthophosphate cements: a pilot study» J. Mater. Sci. Mater. Med. 4 (1993), 389-393.
18. Bohner M. Physical and chemical aspects of calcium phosphates used in spinal surgery // Eur. 10(2001), 114-121.