

tation: Enhancement of Natural Killer cell activity and early inflammatory response (randomized, double-blinded, placebo-controlled trial). *Journal of Nutrition*. 2012; 11:1–8. DOI: 10.1186/1475-2891-11-53.

6. Montoya, E.Y.O., et al. Production of *Chlorella vulgaris* as a source of essential fatty acids in a tubular photobioreactor continuously fed with air enriched with CO₂ at different concentrations. *Biotechnology Progress*. 2014; 30(4):916–22. DOI: 10.1002/btpr.1885.

7. Morris Jr S.M. Recent advances in ar-

ginine metabolism: roles and regulation of the arginases. *British Journal of Pharmacology*. 2009; 157(6):922–30. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00278.x.

8. Panahi Y., Khosroshahi A.Y., Sahebkar A., Heidari H.R. Impact of Cultivation Condition and Media Content on *Chlorella vulgaris* Composition. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2019; 9(2):182–194. DOI: 10.15171/apb.2019.022.

9. Shibata S., et al. Antioxidant and anti-cata-ract effects of *Chlorella* on rats with streptozo-tocin-induced diabetes. *Journal of Nutritional Sci-*

ence and Vitaminology. 2003; 49(5):334–39. DOI: 10.3177/jnsv.49.334.

10. Tabarsa M., et al. An immune-enhancing water-soluble α -glucan from *Chlorella vulgaris* and structural characteristics. *Food Science and Biotechnology*. 2015; 24:1933–1941. DOI: 10.1007/s10068-015-0255-0.

11. Vecina J.F., et al. *Chlorella* modulates insulin signaling pathway and prevents high-fat diet-induced insulin resistance in mice. *Life Sciences*. 2014; 95(1):45–52. DOI: 10.1016/j.lfs.2013.11.020.

Д.Н. Сидорова, А.М. Спиридонов, И.П. Троев,
Л.Г. Маринова, М.П. Кириллина, Г.А. Пальшин, Д.В. Сивцев,
А.А. Дьяконов, Н.Н. Лазарева, А.А. Охлопкова

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СОВМЕСТИМОСТИ ПОЛИТЕТРАФТОРЭТИЛЕНА МАРКИ ПН-90 НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

DOI 10.25789/YMJ.2024.85.27

УДК 617; 678.5

В работе приведены результаты исследования биосовместимости политетрафторэтилена марки ПН-90 имплантированного в подкожно-жировое пространство лабораторных животных – крыс линии Wistar. Вживление полимера проводилось под общим наркозом в подлопаточную область. Рассмотрены гистологические срезы тканей с контрольного участка и близлежащих к имплантату. Вокруг имплантированного политетрафторэтилена наблюдается интенсивный рост новых сосудов разного калибра в сочетании с сильной пролиферацией фибробластов. Также проведены исследования на ИК-спектрометре и растровом электронном микроскопе полимерного материала до и после имплантации. По результатам исследований методом ИК-спектроскопии можно сделать вывод о том, что после имплантации химический состав полимера остается неизменным. Поверхность политетрафторэтилена после имплантации выглядит практически идентично с поверхностью исходного полимера. По полученным данным сделаны выводы о биологической совместимости политетрафторэтилена и его возможности использования в медицине в качестве основы для имплантов.

Ключевые слова: биосовместимость, воспаление, имплантация, политетрафторэтилен, крысы.

СВФУ им. М.К. Аммосова, г. Якутск: **СИДОРОВА Долгуйаана Николаевна** – вед. инженер ИЕН, инженер-исследователь лаб. МИ, ORCID 0000-0001-7470-5634, dolguyana.sidorova@bk.ru, **СПИРИДОНОВ Александр Михайлович** – к.х.н., в.н.с.-руковод. лаб. ИЕН, ORCID 0000-0001-6520-5785, spalmik@mail.ru, **ТРОЕВ Иван Петрович** – с.н.с. МИ, ORCID 0000-0001-9782-8565, ysumed@yandex.ru, **МАРИНОВА Людмила Германовна** – к.м.н., н.с. МИ, ORCID 0000-0001-8284-0051, marinova@mail.ru, **ПАЛЬШИН Геннадий Анатольевич** – д.м.н., проф., зав. кафедрой МИ, ORCID 0000-0002-2346-8090, palgasv@mail.ru, **СИВЦЕВ Денис Витальевич** – студент ИЕН, ORCID 0000-0002-0115-4699, Alen1882@gmail.com, **ДЬЯКОНОВ Афанасий Алексеевич** – с.н.с. ИЕН, ORCID 0000-0002-1076-0631, afonya71185@mail.ru, **ЛАЗАРЕВА Надежда Николаевна** – к.т.н., доцент, в.н.с.-зав. лаб. ИЕН, ORCID 0000-0001-5090-0793, lazareva-nadia92@mail.ru, **ОХЛОПКОВА Айтиалина Алексеевна** – д.т.н., проф., гл.н.с. ИЕН, ORCID 0000-0003-0691-7066, okhlopkova@yandex.ru, **КИРИЛЛИНА Мария Петровна** – к.б.н., в.н.с.-руковод. лаб. ЯНЦ КМП, г. Якутск, ORCID 0000-0002-8629-1296, kirillinamp@mail.ru.

This paper presents the results of biocompatibility research of PN-90 polytetrafluoroethylene implanted in the subcutaneous fat space of laboratory animals (Wistar rats). The implantation of the polymer was carried out under general anesthesia in the subscapular region. Histological sections of tissues from the control area and adjacent to the implant were investigated. Around the implanted polytetrafluoroethylene there was an intensive growth of new vessels of various calibers combined with a severe fibroblasts proliferation. The polymeric material was also investigated by means of an IR spectrometer and a scanning electron before and after implantation. According to the results of IR spectroscopy the chemical composition of the polymer remains unchanged. The surface of polytetrafluoroethylene after implantation was practically identical to the surface of the initial polymer. Based on the data obtained, it can be concluded that polytetrafluoroethylene is biologically compatible and can be used in medicine as a base for implants.

Keywords: biocompatibility, inflammation, wear resistance, implantation, polytetrafluoroethylene, rats.

Введение. В медицине уже давно широко используются синтетические полимерные материалы в качестве расходных изделий, систем доставки лекарств, протезов и имплантов, экстракорпоральных устройств и т.д. В большинстве случаев использование полимеров обуславливается дешевизной и технологичностью в процессе изготовления требуемых изделий, а также возможностью легко варьировать их эксплуатационные свойства. Также к материалам, имплантируемым в человеческое тело, предъявляется ряд

требований, включающих в себя: высокую биосовместимость, химическую инертность, высокую чистоту изделия, износостойкость, стабильность основных характеристик [3].

Подходящим для использования в медицине полимером является политетрафторэтилен (ПТФЭ), или тефлон – это воскообразный и гладкий синтетический полимерный материал, широко используемый во многих отраслях промышленности и медицины. Он обладает очень высокой термической и химической стабильностью, низким

коэффициентом трения и высокой гидрофобностью. Также к списку его свойств относятся: биосовместимость, коррозионная стойкость, инертность и сравнительно низкая стоимость. Первое медицинское применение ПТФЭ заключалось в создании искусственных клапанов сердца. Впоследствии область применения постепенно расширялась с разработкой сосудистых трансплантатов, опор для регенерации кости и протезов для вправления грыж [4, 6-8, 11, 12].

Степень биологической совместимости материалов исследуется на лабораторных животных путем хирургической имплантации в физиологические пространства. Совместимость определяется иммуногенностью и характером воспалительных процессов в тканях организма вокруг исследуемого объекта. Во время имплантирования материалов наиболее ярко проявляются изменения тканей при минимальном травмирующем воздействии инородного объекта. Чаще всего вживление исследуемых образцов проводится в гиподерму или подкожные слои. Оценка реакции окружающих тканей на имплантацию производится путем сравнения морфологических признаков воспаления, миграции иммунокомпетентных клеток и васкуляризации в тканях вокруг имплантированного материала с морфологической характеристикой тканей с нетронутых участков симметричных зон при помощи микроскопии. Отсутствие местного патогенного действия определяется косвенно с применением субкутанных имплантационных тестов. С учетом размеров имплантируемых материалов, кратковременной длительности эксперимента в качестве испытуемых лабораторных моделей используются мелкие грызуны и кролики [1, 2].

Целью данного исследования является проверка биосовместимости ПТФЭ марки ПН-90 *in vivo* на лабораторных животных.

Материалы и методы исследования. В качестве имплантируемого материала использовался политетрафторэтилен марки ПН-90 (ГалоПолимер, Россия) со средним размером частиц 90 мкм и плотностью 2,16 г/см³. Образцы из ПТФЭ получали методом холодного прессования в гидравлическом прессе ПКМВ-100 (Импульс, Россия) при комнатной температуре с давлением 50 МПа и дальнейшем спеканием в программируемой печи SNOL 15/900 (Umega Group, Литва) при 375 °С.

Исследование износостойкости

проводили на трибологической машине UMT-3 (CETR, США) по схеме трения «палец-диск», согласно ГОСТ 11629-2017. В процессе испытания определяли изменение объема (ΔV , см³), скорость массового изнашивания (I , мг/ч) и коэффициент трения (f) материала.

ИК-спектры имплантируемого ПТФЭ до и после операции получили на ИК-спектрометре с Фурье преобразованием Varian 7000 FT-IR (Varian, США). Спектры, полученные с помощью приставки нарушенного полного внутреннего отражения, находятся в диапазоне 500-4000 см⁻¹.

С помощью растрового электронного микроскопа JSM-7800F (Jeol, Япония) исследовали надмолекулярную структуру материала до и после имплантации в режиме вторичных электронов при низком ускоряющем напряжении.

In vivo исследование проводилось на 3 лабораторных крысах линии Wistar в возрасте 4 месяцев весом в 450-500 г. Для операции лабораторные крысы вводились в общий наркоз путем внутримышечного введения 2%-ного раствора ксилазина из расчета 0,05 мл на кг массы тела животного и раствора «Телазол 100 мг», содержащего 50% тилетамина и 50% золазепам из расчета 40 мкл препарата на 100 грамм массы тела животного. Производили продольный разрез параллельно линии позвоночника через всю толщину кожи длиной 0,5-0,8 см, скальпелем формировали канал длиной 2 см со слепым утолщением в сторону подвздошной области для размещения имплантата (рис. 1), фиксируемого естественными соединительнотканными образованиями. Гемостаз осуществляли стерильным ватным тампоном. Готовые имплантаты размером 0,5х1,0 см в ширину и длину вводились в сформированный карман. Фиксацию имплантата контролировали визуально и пальпаторно. Рана зашивалась простым непрерывным узловым швом.

Через 10 дней производилось извлечение имплантата с биопсией всех слоев тканей одним блоком непосредственно над имплантатом. Зона биопсии определялась пальпаторно. С противоположной стороны дорсальной области биоптировали слои тканей для контрольного сравнения. Прилегающие к имплантату ткани после изъятия осматривались визуально. Все биоптаты помещались в 10%-ный раствор нейтрального формалина и предоставлялись в гистологическую лабораторию для подготовки препара-

тов. Биоптаты заключались в парафин на гистологической станции EG 1150 (Leica Microsystems, Германия). Гистологические срезы толщиной 3-5 мкм изготавливались на полуавтоматическом санном микротоме SM2010R (Leica Microsystems, Германия). Образцы окрашивались гематоксилином и эозином на аппарате Autostainer XL (Leica Microsystems, Германия) и направлялись на исследование при помощи оптического микроскопа.

Исследование гистологических срезов тканей после имплантации полимерных материалов в лабораторное животное проводилось на оптическом микроскопе BX-41 (Olympus, Япония).

Результаты и обсуждение. Результаты трибологических исследований полимерного материала представлены в таблице.



Рис. 1. Фотографии лабораторной крысы при имплантации ПТФЭ

Результаты трибологических исследований

Показатели	ΔV , см ³	I , мг/ч	f
ПТФЭ ПН-90	0,07	51,39	0,23

Примечание. ΔV – изменение объема, см³; I – скорость массового изнашивания, мг/ч; f – коэффициент трения.

Исходный ПТФЭ обладает средними значениями износостойкости, но эти показатели возможно варьировать до требуемых свойств путем добавления в полимер наполнителей. Природу наполнителей определяется в зависимости от предназначения конечного материала [10-11].

ИК-спектры имплантата из ПТФЭ до и после клинического испытания приведены на рис. 2.

Пики, показывающие наиболее интенсивные полосы поглощения, имеют волновые числа 1200 и 1146 см⁻¹ и относятся к валентным колебаниям групп -CF₂-. Колебания при 640 см⁻¹ относят к веерным колебаниям ν_{w}

(-CF₂-), а при 555 см⁻¹ описывают колебания деформационного вида групп -CF₂-. Также по ИК-спектру можно увидеть, что материал до и после имплантации сохранил свои изначальные свойства, т.е. не подвергся каким-либо изменениям в теле лабораторного животного [9].

Растровый электронный микроскоп применялся для наблюдения изменений в морфологии поверхности ПТФЭ до и после операции по имплантации (рис. 3).

Как видно, после имплантации поверхность материала не претерпела значительных изменений (рис. 3, б) по сравнению с исходным (рис. 3, а).

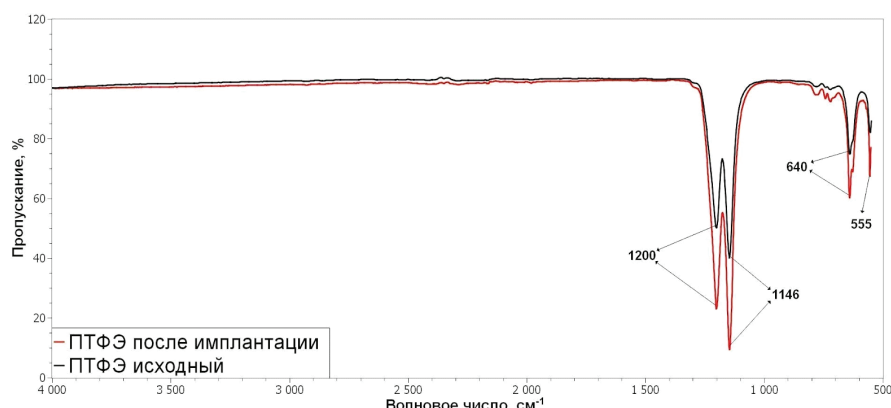


Рис. 2. ИК-спектр имплантата из ПТФЭ

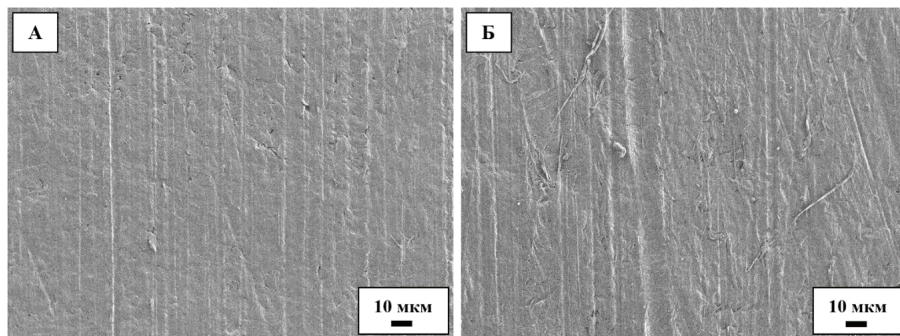


Рис. 3. Микрофотографии поверхности ПТФЭ до (а) и после имплантации (б)

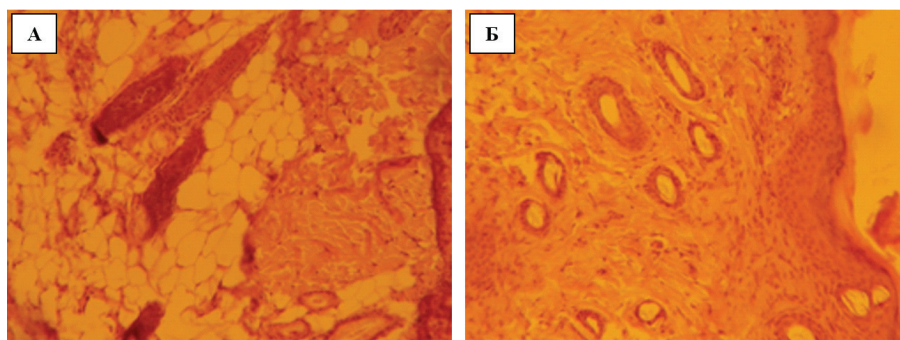


Рис. 4. Гистологические срезы тканей крыс: контрольный участок (а) и участок вокруг имплантата ПТФЭ (б)

Образовались некоторые микровыступы после имплантации, которые, вероятно, появились под воздействием циклических нагрузок на полимер, возникающих в живом организме. Для исключения дальнейших изменений возможно проведение модификации физико-механических свойств полимерных образцов на основе ПТФЭ различными методами, что позволит увеличить спектр применения материала в имплантологии.

На рис. 4 приведены гистологические срезы тканей с контрольных зон и с участка вокруг имплантата. Проведена сравнительная характеристика гистологических образцов тканей вокруг имплантатов и биоптатов (рис. 4, б), взятых из не затронутых областей (рис. 4, а), в качестве контрольных образцов. На 10-й день воспаления начинаются пролиферативная стадия воспаления и завершающие этапы экссудации, характеризующиеся активным ростом клеток, участвующих в процессах репарации, ростом новых сосудов. Наличие отеков и неопангогенеза свидетельствует об интенсивности и продолжительности стадии экссудации. Количествомигрировавших лимфоцитов и макрофагов оценивали степень иммунореактивности на присутствие чужеродного материала. Воспалительный инфильтрат во всех образцах частично заполнялся фибробластоподобными клетками, что свидетельствует об активации репаративных процессов [10].

Вокруг имплантированного полимера наблюдается интенсивный рост новых сосудов разного калибра в сочетании с сильной пролиферацией фибробластов во всех слоях дермы. Это может свидетельствовать о наступлении пролиферативной стадии воспаления и начала репаративных процессов. Количество фибробластоподобных клеток в поле зрения варьирует от 50 до 80 клеток. Однако наблюдается низкая инфильтрация иммунокомпетентных клеток – число мононуклеаров в поле зрения в среднем 20 ± 5 клеток. Это говорит о низкой степени иммунореактивности и деструктивных процессов.

Заключение. По результатам исследований биосовместимости имплантируемого политетрафторэтилена в лабораторных животных можно сделать выводы:

- методом ИК-спектроскопии установлено, что имплант из политетрафторэтилена не подвергается химическим изменениям в теле лабораторного животного;

- методом электронной микроскопии

установлено, что поверхность полимера не подвергается значительным изменениям в теле лабораторного животного;

- по гистологическим срезам наблюдается биологическая инертность ПТФЭ, которая проявляется практически полным отсутствием ответной иммунной реакции со стороны организма, полимер легко прорастает окружающими тканями организма и надежно в них фиксируется благодаря сообщаемой системе пустот.

Полученные результаты свидетельствуют о химической стойкости, низкой токсичности и иммуногенности ПТФЭ марки ПН-90 in vivo, что определяет актуальность его практического применения в медицине как биологически совместимого материала. В последующем планируется проведение более обширных и длительных доклинических испытаний на биологическую совместимость.

Работа выполнена в рамках федерального проекта "Развитие человеческого капитала в интересах регионов, отраслей и сектора исследований и разработок" национального проекта "Наука и университеты", шифр тематики FSRG-2022-0009 "Разработка и испытание новых биомедицинских клеточных продуктов, композиционных медицинских изделий".

Литература

1. Изучение равномерности формирования соединительной ткани на месте биодеградируемого импланта в эксперименте на животных / И.А. Эйзенх [и др.] // Медицина в Кузбассе. 2020. № 4. С. 14-20. DOI: 10.24411/2687-0053-2020-10034

Study the Uniformity of Connecting Tissue

Forming Instead Biodegradable Implant in Experiment With Animals / Eisenach I.A. [et al.] // Medicine in Kuzbass. 2020. № 4. P. 14-20. DOI: 10.24411/2687-0053-2020-10034

2. Изучение воспалительной реакции на имплантацию биодеградируемого полимера в сравнении с полипропиленом в эксперименте на животных / И.А. Эйзенх [и др.] // Медицина в Кузбассе. 2020. № 3. С. 13-20. DOI: 10.24411/2687-0053-2020-10022

Study of Tissue Inflammatory Response to Implantation of a Biodegradable Polymer Compared to Polypropylene in an Animals Experiment / Eisenach I.A. [et al.] // Medicine in Kuzbass. 2020. № 3. P. 13-20. DOI: 10.24411/2687-0053-2020-10022

3. Лось Д.М., Шаповалов В.М., Зотов С.В. Применение полимерных материалов для изделий медицинского назначения // Проблемы здоровья и экологии. 2020. Т. 64, №2. С. 5-13. DOI: 10.51523/2708-6011.2020-17-2-1

Los D.M., Shapovalov V.M., Zotov S.V. The Use of Polymer Materials for Medical Applications // Problems of Health and Ecology. 2020. Vol. 64. № 2. P. 5-13. DOI: 10.51523/2708-6011.2020-17-2-1

4. Сравнительная характеристика воспалительной реакции при имплантации синтетических полимерных материалов на экспериментальных животных / И.П. Троев [и др.] // Ползуновский вестник. 2023. № 1. С. 178-185. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.01.022

Comparative Characteristics of the Inflammatory Reaction During Implantation of Synthetic Polymeric Materials in Experimental Animals / Troev I.P. et al. // The Polzunov Bulletin. 2023. №1. 178-184. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.01.022

5. Dhas D.J., Senthilnathan S.S., Manivannan G., Azhagesan N. Extensive Investigation in Wear Behavior of Alumina-PTFE Composite for Medical Implant Applications // International Journal of Composite Materials. 2017. Vol. 7. № 4. P. 115-119. DOI: 10.5923/j.comaterials.20170704.01

6. Gostev A.A., Chernonosova V.S., Murashov I.S., Sergeevichev D.S., Korobeinikov A.A., Karaskov A.M., Karpenko A.A., Laktionov P.P. Electrospun Polyurethane-Based Vascular Grafts: Physicochemical Properties and Functioning in Vivo // Biomedical Materials. 2020. Vol. 15. № 1. P. 015010. DOI: 10.1088/1748-605X/ab550c

7. Lee K.S., Kayumov M., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Jeong Y.J., Lee D.W.,

Park J.K., Park C.H., Kim C.S., Obiwezuor F.O., Jeong I.S. A Comparative Study of an Anti-Thrombotic Small-Diameter Vascular Graft with Commercially Available e-PTFE Graft in a Porcine Carotid Model // Tissue Engineering and Regenerative Medicine. 2022. № 19. P. 537-551. DOI: 10.1007/s13770-021-00422-4

8. Randone B., Cavallaro G., Polistena A., Cucina A., Coluccia P., Graziano P., Cavallaro A. Dual Role of VEGF in Pretreated Experimental e-PTFE Arterial Grafts // Journal of Surgical Research. 2005. Vol. 127. № 2. P. 70-79. DOI: 10.1016/j.jss.2004.09.005

9. Sleptsova S.A., Lazareva N.N., Fedoseeva V.I., Kapitonova Yu.V., Okhlopova A.A. The Influence of Metal Cations of Mechanoactivated Bentonite on Tribochemical Processes in PTFE // Journal of Friction and Wear. 2018. Vol. 39. P. 469-475. DOI: 10.3103/S1068366618060120

10. Saleh A.S. Evaluation of Hepatorenal Protective Activity of Moringa Oleifera on Histological and Biochemical Parameters in Cadmium Intoxicated Rats // Toxine Reviews. 2018. Vol. 28. № 4. P. 338-345. DOI: 10.1080/15569543.2018.1478859

11. Wilasrusmee C., Siribumrungwong B., Horsiramanont S., Poprom N., Jirasiritham J., Thakkinstant A. Clinical Results of Biologic Prosthesis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Comparative Studies // Annals of Medicine and Surgery. 2017. № 15. P. 26-33. DOI: 10.1016/j.amsu.2017.01.018

12. Xi Chen, Ruiyang M, Jie Min, Zhi Li, Ping Yu, Haiyang Yu. Effect of PEEK and PTFE Coatings in Fatigue Performance of Dental Implant Retaining Screw Joint: An in Vitro Study // Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2020. № 103. P. 103530. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2019.103530

13. Van der Lei B., Dijk F., Bartels H.L., Jongbloed HYPERLINK "https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Jongbloed+WL&cauthor_id=8461898" HYPERLINK "https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Jongbloed+WL HYPERLINK "https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Jongbloed+WL&cauthor_id=8461898"& HYPERLINK "https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Jongbloed+WL&cauthor_id=8461898"cauthor_id=8461898"cauthor_id=8461898" W.L., Robinson P.H. Healing of Microvenous PTFE Prostheses Implanted Into the Rat Femoral Vein // British Journal of Plastic Surgery. 1993. Vol. 46. № 2. P. 110 - 115. DOI: 10.1016/0007-1226(93)90140-7