

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ройт А. Иммунология: учебник: пер. с англ. / А. Ройт, Д. Бростофф, Д. Мейл. – Москва: Мир, 2000. – 593 с.
2. Бухарин О.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О.В. Бухарин, Н.В. Васильев. – Томск: Изд-во Томского университета, 1974. – 209 с.
3. Данилов В.С. Сенсорные биолюминесцентные системы на основе lux-оперонов разных видов люминесцентных бактерий / В.С. Данилов и др. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 16. Биология. – 2002. – № 3. – С. 20-24.
4. Дерябин Д.Г. Особенности использования биолюминесцентных тест-систем при исследовании абиотических сред и биологических жидкостей. / Д.Г. Дерябин, Е.Г. Поляков, И.Ф. Каримов // Вестн. Оренбург Гос. Универ. – 2004. – С. 101-104.
5. Бухарин О.В. Фотонейфелометрический метод определения бактерицидной активности сыворотки крови / О.В. Бухарин, В.Л. Созыкин. В сб.: Факторы естественного иммунитета, Оренбург. 1979. – С. 43-45.

MOLECULAR FACTORS ROLE IN FORMING SERUM BLOOD BACTERICIDE PROPERTIES IN RESPECT OF LUMINESCENT STRAINS

Karimov I.F, Bazarova Yu.Yu.

Orenburg State University, Orenburg, Russia

Molecular components of blood serum have multidirectional effects on different groups of bacteria. In the work strains with two types of cell wall and ecological features were used. The role of immunoglobulins and C5 protein of the complement system in the intensity of bactericidal effect against luminescent bacteria was determined.

Key words: immunity effectors, antibodies, complement, bacterial biotests, lux-genes

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОМПОЗИТА СВЕРХВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ПОЛИЭТИЛЕНА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ХРЯЩЕВОГО БИОИМПЛАНТАТА

Киселевский М. В.¹, Лебединская О. В.², Анисимова Н. Ю.¹,
Копылов А. Н.¹

¹ФГБУ «РОНЦ им Н. Н. Блохина» РАМН, Москва; ²ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» МЗ России, Пермь, Россия

Целью данной работы являлось исследование биологических и механических свойств материала, изготовленного из сверхвысокомолекулярного полиэтилена (СВМПЭ). Исследования механических свойств показали, что материал, приготовленный из СВМПЭ с использованием механической активации и с добавкой Al₂O₃, обладает самыми высокими механическими характеристиками, в частности, наибольшей стойкостью к истиранию по сравнению с образцами СВМПЭ без добавки Al₂O₃ и не подвергнутого механической активации. Через 60 суток после ортотопической трансплантации образцов из данного материала крысам было отмечено отсутствие каких-либо признаков воспаления, клеточной инфильтрации, разрушения образца и дальнейшего разрушения костно-хрящевого дефекта. Образец оставался на месте имплантации без смещений. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования СВМПЭ в качестве материала для создания имплантатов для замещения хрящевых дефектов.

Ключевые слова: сверхвысокомолекулярный полиэтилен (СВМПЭ), хрящ, репарация, имплантат

Проблема восстановления хрящевых тканей чрезвычайно актуальна, так как заболевания опорно-двигательного аппарата, связанные с патологией хряща, очень широко распространены и являются одной из главных причин снижения качества жизни [1, 2, 3]. Существующие на данный момент методики лечения не позволяют полноценно восстановить повреждение хряща. В литературе нет достоверного подтверждения результатов предотвращения разрушения хрящевой ткани при использовании хондропротекторных препаратов, блокирующих апоптоз хондроцитов или обеспечивающих питание с помощью компонентов межклеточного вещества [4].

Более перспективными являются хирургические методы. Имеются многочисленные подтверждения удовлетворительных результатов применения хирургических методов лечения [1, 2, 5, 6]. Наиболее результативным из них служит использование скаффолдов для замещения участков повреждения хряща. С этой целью применяют ауто и алло трансплантаты, введение аутологичных хондроцитов и биоимпланты из синтетических материалов. По литературным данным, одним из перспективных является создание синтетических имплантатов на основе материалов из сверхвысокомолекулярного полиэтилена (СВМПЭ) [7].

Целью данной работы является исследование механических характеристик, биосовместимости и иммуногенных свойств имплантов синтетического происхождения на основе сверхвысокомолекулярного полиэтилена для замещения хрящевых дефектов.

Материалы и методы.

Получение экспериментальных образцов.

В качестве полимерной матрицы был использован порошок СВМПЭ (производства ОАО «Казаньоргсинтез» (РФ) с молекулярной массой 2×10^6 г/моль). Наночастицы Al_2O_3 (производства ОАО «Сибирский химический комбинат, средний размер 20 нм) применялись как наполнитель, составляя 3 % массы. На данной основе были подготовлены 3 типа образцов: СВМПЭ, композит СВМПЭ/ Al_2O_3 и композит СВМПЭ/ Al_2O_3 после механической активации.

Смешивание СВМПЭ и нанопорошка Al_2O_3 без механической активации проводили в мельнице IKA M20 (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Германия) в течение 5 мин со скоростью 20 000 об/мин. Механоактивация СВМПЭ и Al_2O_3 осуществлялась с помощью планетар-

ной мельницы Fritsch Pulverisette 5 (Fritsch GmbH, Германия), оснащенной оборудованной агатовыми барабанами емкостью 500 мл. Термопрессование механоактивированной смеси проводили с помощью гидравлического прессы MEGA KSC-10A при нагрузке 70 МПа с поддержкой в течение 50 мин при 160°C и последующим охлаждением под давлением. Для исследований были изготовлены образцы различной формы: Из материала, который продемонстрировал лучшие механические и трибологические свойства, готовили образцы для испытаний *in vivo* (полусферы $d = 1,8$ мм).

Исследование механических и трибологических свойств образцов. Измерение модуля Юнга композита при сжатии проводили по ГОСТ 4651-82 на универсальной испытательной машине Zwick/Roell Z 020, используя образцы размером 24×12,5 мм (скорость сжатия 10 мм/мин). Трибологические испытания осуществляли в режиме, соответствующем стандартным параметрам трибологических испытаний хрящей суставов [15]: трение в дистиллированной воде по методу «пальчик-диск» на установке CETR-UMT-3 (Bruker AXS, Швейцария).

Исследование цитотоксических свойств образцов и индуцированного гемолиза *in vitro*. Образцы коинкубировали с клетками, выделенными из костного мозга собаки в течение 2 сут. и провели исследование цитотоксичности в МТТ-тесте. Для изучения уровня индуцированного гемолиза образцы инкубировали в течение 24 часов с взвесью эритроцитов, полученной из крови здоровых доноров, центрифугировали и измеряли оптическую плотность супернатанта при λ 540 нм.

Исследование биосовместимости образцов при ортотопической трансплантации. Манипуляции с лабораторными животными проводились в соответствии с международными требованиями. В опыте использованы самцы крыс линии Wistar массой 200-400 г ($n=5$). После наркотизации диэтиловым эфиром с помощью бора диаметром 1,8 мм в суставной поверхности большеберцовой кости крыс формировали дефект полусферической формы, в который помещали исследуемый образец.

Гистологические исследования. Извлечённые через 60 суток образцы с окружающими тканями изучали макроскопически, после чего подвергали стандартной гистологической об-

работке. Серийные парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и фотографировали с использованием системы Zeiss Axioplan 2 (Carl Zeiss, Jenna, Германия).

Результаты исследования. В результате механических испытаний на сжатие трёх цилиндрических образцов: СВМПЭ, композита СВМПЭ/ Al_2O_3 и композита СВМПЭ/ Al_2O_3 после механоактивации выявлено, что наибольшее значение модуля Юнга при сжатии демонстрирует композит СВМПЭ/ Al_2O_3 после механоактивации. Установлено, что значение отношения модуля упругости СВМПЭ, наполненного оксидом алюминия после механоактивации, к модулю упругости костной ткани ближе к оптимальному, чем у металлических и керамических материалов, часто используемых в эндопротезировании. Результаты трибологических испытаний показали, что после одного часа трения величина износа (Z) составила 0.13 для образца СВМПЭ, 0.23 – для композита СВМПЭ/ Al_2O_3 и 0.05 мм – для композита СВМПЭ/ Al_2O_3 после механоактивации.

Таким образом, введение наночастиц Al_2O_3 в матрицу СВМПЭ путем смешивания в отсутствие механоактивации приводит к снижению износостойкости. Износ увеличивается в 1.8 раз по сравнению с ненаполненным СВМПЭ после 1 часа трения. В то же время, введение наночастиц Al_2O_3 в матрицу СВМПЭ при механоактивации ведет к увеличению износостойкости. Износ снижается в 2.6 раз по сравнению с ненаполненным СВМПЭ. Этот факт очень важен для дальнейшего использования данного материала в операциях по замещению дефектов хрящевой ткани и при тотальном эндопротезировании суставов.

Исследование материалов на основе СВМПЭ на биосовместимость *in vitro* показало, что все три вида изучаемых образцов обладают наименьшей цитотоксической активностью (не более 20 %) и не индуцируют достоверного уровня гемолиза (не более 7 %).

В предыдущей работе исследовались также биологические свойства образцов СВМПЭ/ Al_2O_3 после механоактивации при гетеротопной трансплантации мышам [8]. Установлено, что образцы материала, изъятые из подкожных карманов через 2 месяца, были покрыты соединительнотканной капсулой, плотно сращённой с окружающей соединительной тканью. При этом не отмечалось каких-либо признаков воспаления или разрушения имплантов.

При макроскопическом исследовании извлечённых у крыс большеберцовых костей с суставной поверхностью отмечено отсутствие реакции острого воспаления в области имплантата. На продольном срезе сустава заметна плотная интеграция имплантированного образца в эпифизарную часть большеберцовой кости. Коленный сустав сохранял функциональную активность и не подвергался дальнейшим разрушениям, размер дефекта не увеличивался.

Одной из самых важных задач при создании имплантатов является решение проблемы иммуногенности. Использование для создания имплантатов клеточных технологий, предполагающих заселение матрикса клетками реципиента, может способствовать сохранению и улучшению его механических, химических и биологических характеристик.

Гистологические исследования продемонстрировали, что образец сохранял свою структуру и расположение, не вызывая воспалительной реакции, не подвергался воздействию клеток, осуществляющих его резорбцию. Отмечалось в основном плотное прилегание образца к окружающим тканям. В соседних к дефекту участках сохранялся неизменённый суставной гиалиновый хрящ. В области дефекта наблюдались очень небольшие прослойки соединительной ткани с сосудами и многочисленными фибробластами. В них не обнаруживалось лейкоцитарной инфильтрации, что можно интерпретировать как отсутствие реакции острого отторжения. На границе дефекта с неизменёнными тканями выявлялись очаги хондрогенеза.

Таким образом, в данном исследовании было установлено, что исследуемые образцы, полученные на основе СВМПЭ с соответствующими добавками, являются биологически совместимыми с тканями организма мышей и перспективными для создания имплантов, но требуются дальнейшие исследования по выявлению их иммуногенных свойств.

Суммируя все полученные результаты, можно сделать вывод, что нанокompозит СВМПЭ/ Al_2O_3 , полученный методом механоактивации и термопрессования, является перспективным материалом для эндопротезирования и его можно рекомендовать для дальнейших исследований в качестве основы имплантатов с целью замещения дефектов хряща, в частности, в области суставных поверхностей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bobic V. Articular cartilage – to repair or not to repair / Bobic V., Noble J. // British Editorial Society of Bone and Joint Surgery J Bone Joint Surg [Br].– 2000-82 – P. 165-166.
2. Perera J. The present state of treatments for articular cartilage defects in the knee / Perera J., Gikas P., Bentley G. // Annals of The Royal College of Surgeons of England.– 2012-94.– P. 381-387.
3. Curl W. Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies / Curl W., Krome J., Gordon E. // Arthroscopy.– 1997-13 – P. 456-460.
4. Simon C. Functional articular cartilage repair: here, near, or is the best approach not yet clear? / Simon C., Daniël B., Saris and Floris P. // Journal Nature Reviews Rheumatology– 2013-9 – P. 277-290.
5. Redman S. Current strategies for articular cartilage repair / Redman S., Oldfield S. and Archer C. // Eur. Cell Mater.– 2005.– 9 – P. 23-32.
6. Repair of defects in articular joints / Lynn A., Brooks R., Bonfield W., Rushton N. // J Bone Joint Surg Br.– 2004-86 – P. 1093-1099.
7. UHMWPE biomaterials handbook Steven M. Kurz – 2009.
8. Исследование биосовместимости и иммуногенности синтетических имплантатов / Копылов А. Н., Лебединская О. В., Анисимова Н. Ю., Сенатов Ф. С., Максимкин А. В., Киселевский М. В. // Российский иммунологический журнал.– 2013.– Т. 7.– № 2-3.– С. 304-305.

STUDY OF THE BIOLOGICAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF THE ULTRA-HIGH-MOLECULAR-WEIGHT-POLY-ETHYLENE COMPOSITE FOR EMPLOYMENT AS CARTILAGE BIOIMPLANT

Kiselevsky M. V.¹, Anisimova N. Yu.¹, Lebedinskaya O. V.², Kopylov A. N.¹

¹*NN Blokhin Scientific Institute "Russian Cancer Research Center", Moscow;*

²*Acad. EA Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia*

Aim of this study is researching the biological and mechanical features of the material, made of ultra-high-molecular-weight-poly-ethylene(UHMWPE) Studing the mechanical features showed that the material prepared with addition of Al₂O₃ and with using mechanical activation has the highest mechanical features, wear resistance in particular, in comparison with UHMWPE samples without Al₂O₃ or prepared without mechanical activation. was chosen for. After 60 days orthotopical transplantation this material in rats we did not find signs of inflammation, cellular infiltration, destruction of material or bone-cartilage defect. Sample was in position of implantation without any shifts. Acquired data shows the perspective-ness of UHMWPE as a material for creating bioimplants for cartilage defects replacement.

Key words. ultra-high-molecular-weight-poly-ethylene (UHMWPE), cartilage, reparation, implant