



УДК 57.086.83:616-089.843

© 2011

**Н. А. Галатенко, Д. В. Кулеш, В. Д. Пінчук, Л. Ф. Наражайко,
Е. Н. Карпик**

Аналіз біосумісності силіконових ендопротезів методом культури тканин та за допомогою імплантаційного тесту

(Представлено академіком НАН України Є. В. Лебедєвим)

Досліджено гістотоксичність і біосумісність матеріалу оболонки ендопротезів молочних залоз. Показано, що матеріал оболонки ендопротезів фірм McGhan та Arion не впливає на динаміку і характер росту клітинних елементів в культурі тканин. Встановлено, що антисептична та стерилізуюча обробка оболонки силіконових ендопротезів перед застосуванням приводить до зменшення запальних процесів навколо імплантатів.

Будь-який матеріал, призначений для біомедичних цілей, перш за все повинен характеризуватися нешкідливістю для організму і функціональністю. Комплекс необхідних хімічних, механіко-фізичних і біологічних властивостей для полімерів медичного призначення достатньо широко варіює залежно від конкретних функцій чи матеріалу, місця його імплантації, термінів служби тощо [1]. Силіконові ендопротези використовуються в реконструктивній та збільшувальній пластичній молочних залоз з початку 60-х років минулого століття і добре себе зарекомендували. Проведені численні дослідження показують, що розвиток патологічних процесів при таких операціях залежить в основному від типу поверхні силіконових ендопротезів та їх антисептичної обробки.

У даному повідомленні наведено результати дослідження гістотоксичності силіконових ендопротезів молочних залоз фірми McGhan та Arion методом культури тканин і визначення їх біосумісності при антисептичній обробці йоддицерином та бетадином перед імплантацією в організм експериментальних тварин.

Для проведення токсикологічних досліджень застосовували метод культури тканин, який є модельною тест-системою у токсикологічному експерименті. Як джерело клітин використовували підшкірну клітковину білих лабораторних щурів, що в умовах культивування викликає ріст фібробластичних і фібробластоподібних елементів. Культури досліджували методом експлантації в згустку плазми у флаконах Карреля. У дослідній групі на 3-тю, 7-му та 10-ту добу культивування тканини модельне середовище 199 замінювали витяжками з дослідних зразків. Витяжку готували в співвідношенні 1 : 1 площі поверхні зразків (см²) до об'єму модельного середовища (см³). Контролем були культивовані тканини.

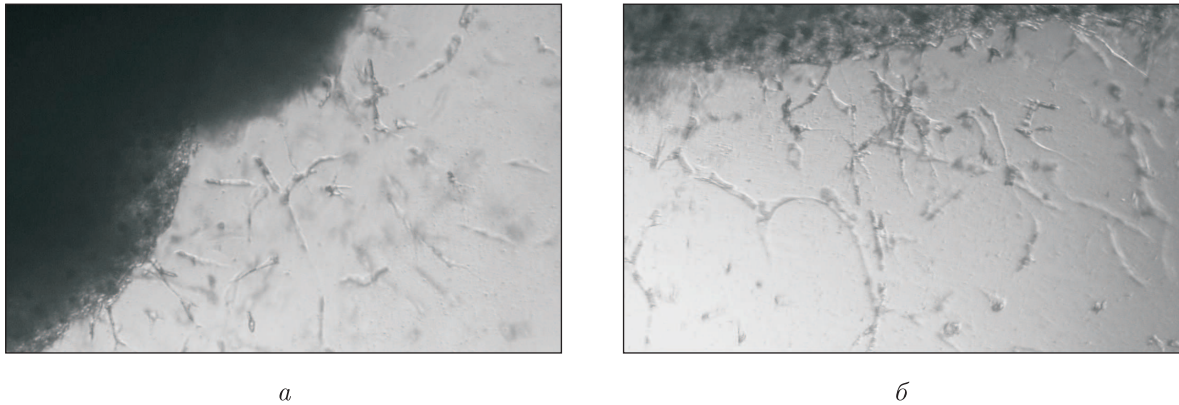


Рис. 1. Початок росту в культурі підшкірно-жирової клітковини щурів. $\times 100$. *a* — контроль; *b* — флакон з витяжкою зразка Arion

З метою стандартизації характеру росту культур їхні зони класифікували на компактну, сіткоподібну і зону мігруючих клітин, критерієм для виділення яких був характер розташування зростаючих фібробластичних елементів [2].

Дослідження росту і розвитку клітинних елементів підшкірної клітковини щурів показало, що міграція фібробластичних елементів при внесенні витяжки зі зразка McGhan в середовище культивування відмічалася на 3-тю добу дослідження, як і в контрольних флаконах (рис. 1, *a*). Фібробластичні елементи мали веретеноподібну, а також неправильну, полігональну форму. У дослідних флаконах з витяжкою зі зразка Arion перші ознаки росту фібробластів також спостерігалися на 3-тю добу культивування. Первинна зона формувалася за рахунок тяжів та одиничних клітин, що мали веретеноподібну форму (див. рис. 1, *b*).

На 5-ту–7-му добу культивування в дослідних флаконах утворювалася сіткоподібна зона росту, яка формувалася з пучків і тяжів, що розташовувалися сіткоподібно, з елементами компактної зони, а також зони мігруючих елементів, що мали веретеноподібну форму. Поверхня росту й зовнішні характеристики клітин не відрізнялися від контрольних зразків. На 10-ту добу культивування відбувалося формування трьох зон росту: компактної, сіткоподібної та зони мігруючих клітин. Зазначимо, що в дослідних зразках ці зони за величиною практично не відрізнялися від контролю, але відзначалося посилення ознак дегенерації клітинних елементів у компактній і сіткоподібній зонах росту, де спостерігалося роз'єднання клітин, втрата ними міжклітинних містків, вакуолізація та зернисте переродження цитоплазми. На 14-ту добу як в контрольних, так і в дослідних флаконах клітинна популяція вступала у фазу дегенерації, що виявлялося в значній вакуолізації цитоплазми та зернистому переродженні її в клітинах, що характерно для даного терміну розвитку культури.

Таким чином, проведені гістотоксичні дослідження показали, що динаміка і характер росту клітинних елементів у дослідних флаконах істотно не відрізнялися від контрольних культур, що дозволило зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу зразків McGhan та Arion на культивовані клітини.

Для вивчення взаємодії імплантатів з тканинами організму проводили імплантаційний тест та вивчали механізми адаптивних перебудов, закономірності регенеративного процесу в оточуючих тканинах. Експеримент проводили на 90 білих лабораторних щурах, яким під наркозом, в умовах асептики виконували субкутальну імплантацію фрагментів оболонки ендопротезів фірми McGhan та Arion з текстурованою поверхнею у таких варіантах: McGhan;

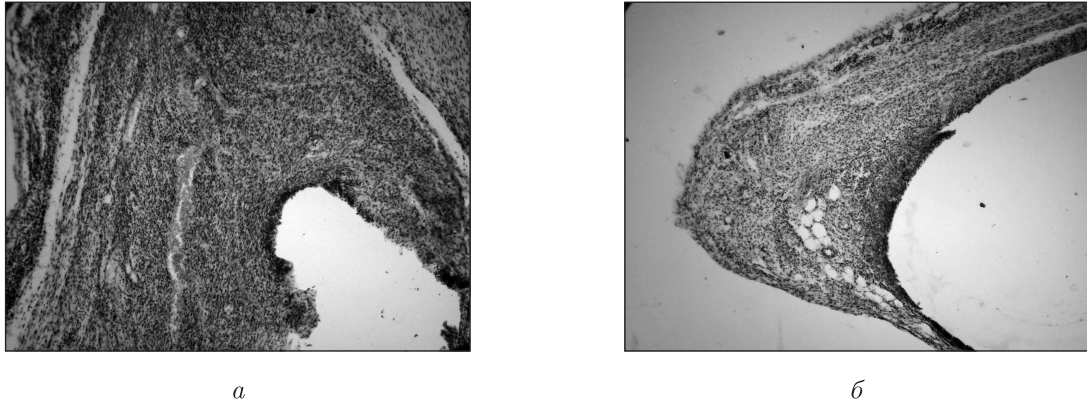


Рис. 2. Гістологічна картина навколо імпантованих фрагментів оболонок ендопротезів через 7 діб після операції. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 100$. *a* — McGhan; *б* — McGhan, оброблений йоддицирином

McGhan, оброблений йоддицирином; McGhan, оброблений бетадином; Arion; Arion, оброблений йоддицирином; Arion, оброблений бетадином. Тварин виводили з експерименту шляхом передозування ефіром на 7-му, 14-ту та 30-ту добу після операції. Імпантати вилучали разом з оточуючими тканинами, фіксували в 10%-му нейтральному формаліні, обробляли за стандартною гістологічною методикою, забарвлювали гематоксилином і еозином.

Через 7 діб після операції навколо імпантованих зразків McGhan виявлявся товстий лейкоцитарний шар (рис. 2, *a*), що складався з поліморфно-ядерних лейкоцитів і лімфоїдних елементів. На цьому фоні яскраво вираженою була макрофагальна реакція. Навколо імпантованих зразків McGhan, оброблених йоддицирином, також виявлявся лейкоцитарний шар, що складався з деградуючих поліморфно-ядерних лейкоцитів та лімфоїдних елементів, яскраво вираженою була макрофагальна інфільтрація оточуючої сполучної тканини (див. рис. 2, *б*). На окремих ділянках спостерігалася досить зріла сполучнотканинна капсула, клітинний склад якої був представлений молодими формами фіброblastів. Навколо імпантованих зразків McGhan, оброблених бетадином, формувалася більш зріла сполучнотканинна капсула, що містила у своєму складі малоспеціалізовані форми фіброblastичних елементів, лімфоцити і макрофаги.

На аналогічному терміні дослідження навколо імпантованих зразків Arion виявлялася досить зріла сполучнотканинна капсула в порівнянні з капсулами навколо імпантованих зразків McGhan. Внутрішній шар капсули складався з молодих форм фіброblastичних елементів. На окремих ділянках спостерігалася яскраво виражена круглоклітинна інфільтрація оточуючої імпантат сполучної тканини. Навколо імпантованих зразків Arion, оброблених йоддицирином, утворювалася досить зріла сполучнотканинна капсула, клітинний склад якої був представлений молодими формами фіброblastів та малодиференційованими клітинними елементами. На внутрішньому боці капсули, що безпосередньо прилягає до імпантованого матеріалу спостерігався клітинний детрит та круглоклітинна інфільтрація. Навколо імпантованих зразків Arion, оброблених бетадином, формувалася менш зріла капсула, ніж навколо зразків Arion, оброблених йоддицирином. Клітинний склад капсули був представлений деградуючими формами поліморфно-ядерних лейкоцитів, макрофагами та молодими фіброblastичними елементами.

Через 14 діб після операції навколо імпантованих зразків McGhan спостерігалася досить зріла сполучнотканинна капсула, яка складалася з пучків колагенових волокон та

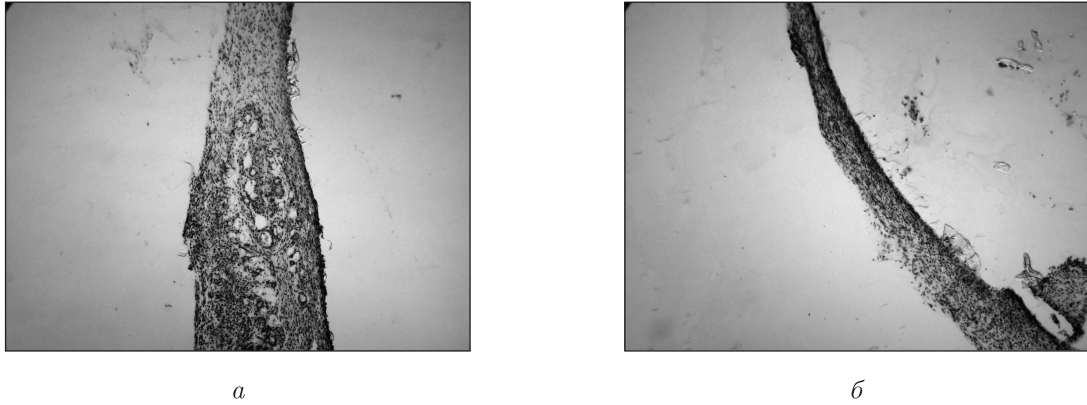


Рис. 3. Гістологічна картина навколо імпантованих фрагментів оболонок ендопротезів через 14 діб після операції. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$. *a* — Arion; *b* — Arion, оброблений бетадином

зрілих фібробластичних елементів. На окремих ділянках капсули мала місце яскраво виражена круглоклітинна реакція. Навколо імпантованих зразків McGhan, оброблених йоддицирином, формувалася сполучнотканинна капсула, внутрішній шар якої на деяких ділянках був представлений залишковими вогнищами деградуючих поліморфно-ядерних лейкоцитів, лімфоїдних елементів. На інших ділянках характерними були пучки зрілих колагенових волокон з веретеноподібними фібробластичними елементами між ними. Як і на попередньому терміні дослідження, відмічалася досить виражена круглоклітинна реакція з боку макрофагів. Навколо імпантованих зразків McGhan, оброблених бетадином, виявлялася зріла сполучнотканинна капсула з характерними пучками колагенових волокон та веретеноподібними фібробластами між ними. Характерною була незначна круглоклітинна інфільтрація.

Навколо імпантованих зразків Arion на 14-ту добу після імпантації формувалася сполучнотканинна капсула, яка на одних ділянках характеризувалася незначною нейтрофільною, лімфоцитарною та макрофагальною інфільтрацією, молодими формами фібробластичних елементів (рис. 3, *a*), на інших — пучками зрілих колагенових волокон та веретеноподібними фібробластами між ними. Капсула навколо імпантованих зразків Arion, оброблених йоддицирином, була зрілою, складалася з пучків колагенових волокон, орієнтованих вздовж імпантованого зразка, та веретеноподібних фібробластів між ними. На окремих ділянках була присутня незначна круглоклітинна інфільтрація. Навколо імпантованих зразків Arion, оброблених бетадином, також спостерігалася зріла сполучнотканинна капсула, що складалася зі зрілих колагенових волокон, між якими знаходилися веретеноподібні фібробластичні елементи. При цьому внутрішній шар капсули характеризувався круглоклітинною інфільтрацією (див. рис. 3, *b*).

Через 30 діб після операції навколо імпантованих зразків McGhan відбувалося дозрівання сполучнотканинної капсули, яка складалася з пучків колагенових волокон та веретеноподібних фібробластів між ними. Наявними були залишкові явища круглоклітинної інфільтрації. Навколо імпантованих зразків McGhan, оброблених йоддицирином, спостерігалася досить тонка сполучнотканинна капсула, колагенові волокна та веретеноподібні фібробластичні елементи якої розташовувалися вздовж імпантованого зразка. Характерною особливістю клітинних реакцій була досить виражена макрофагальна реакція як у самій капсулі, так і в оточуючій сполучній тканині. Навколо імпантованих зразків McGhan,

оброблених бетадином, також відмічалася зріла сполучнотканинна капсула та незначна круглоклітинна реакція з боку макрофагальних елементів та лімфоцитів.

На цьому ж терміні дослідження навколо імплантованих зразків Arion спостерігалася досить тонка та зріла сполучнотканинна капсула. Зрілі колагенові волокна розташовувалися пучками, між якими виявлялися веретеноподібні фіброласти, залишалася круглоклітинна реакція з боку оточуючих тканин. Навколо імплантованих зразків Arion, оброблених йоддицирином, відмічалася посилення круглоклітинної реакції, в основному з боку макрофагів. Сама сполучнотканинна капсула характеризувалася досить високим ступенем зрілості. Навколо імплантованих зразків Arion, оброблених бетадином, відбувалося збільшення товщини сполучнотканинної капсули за рахунок активного синтезу фібробластичними елементами волокнистих структур. При цьому ступінь зрілості капсули був різний по всій її довжині. На одних ділянках спостерігалися пучки колагенових волокон з веретеноподібними фібробластичними елементами, орієнтовані вздовж полімерного матеріалу, на інших — круглоклітинна інфільтрація та молоді форми фібробластичних елементів.

Таким чином, проведені гістологічні дослідження показали, що імплантація в організм експериментальних тварин фрагментів ендопротезів молочних залоз викликала клітинні реакції, характерні для асептичного запалення, яке є захисною функцією тканин та направлено на їх регенерацію. Запальні процеси в місці імплантації приводили до проліферації фіброластів, що продукували компоненти екстрацелюлярного матриксу, відбувався процес формування сполучнотканинної капсули. При обробці зразків McGhan та Arion антисептичними стерилізуючими розчинами інтенсивність та тривалість регенеративних процесів зменшувалися, що приводило до формування сполучнотканинної капсули вже до 7-ї доби після операції. Капсула являла собою щільну неоформлену сполучну тканину, основна маса якої складалася з волокнистих структур — колагенових волокон та фібробластичних елементів. Майже на всіх термінах дослідження навколо імплантованих зразків характерною була яскраво виражена реакція макрофагальних елементів, що можна пояснити їх посиленою активністю, направленою на фагоцитоз клітинного детриту та продуктів розпаду тканин. Попередня обробка оболонок ендопротезів йоддицирином була більш ефективною, ніж обробка бетадином, та приводила до інгібування запальних процесів у місці імплантації і, як наслідок, до зменшення товщини сполучнотканинної капсули за рахунок антисептичної, протизапальної дії йоддицирину.

Проведені гістотоксичні дослідження в культурі тканин дали змогу повністю виключити будь-яку токсичність оболонок силіконових ендопротезів фірм McGhan та Arion. Встановлено, що антисептична та стерилізуюча обробка оболонок силіконових ендопротезів перед застосуванням приводить до зменшення запальних процесів навколо імплантатів, прискорює утворення тонкої та зрілої сполучнотканинної капсули.

1. Сакураи Я., Акаикэ Т. Взаимодействие полимеров медицинского назначения с живым организмом. Введение в биоматериаловедение // Полимеры медицинского назначения / Под ред. С. Манабу. – Москва: Медицина, 1981. – С. 194–243.
2. Галатенко Н. А., Яценко В. П., Пхакадзе Г. А. Определение гистотоксичности полимеров медицинского назначения с использованием тканевой культуры // Докл. АН УССР. Сер. Б. – 1982. – № 9. – С. 54–58.

*Інститут хімії високомолекулярних сполук
НАН України, Київ
Київський міський центр пластичної мікросхірургії
та естетичної медицини*

Надійшло до редакції 21.03.2011

N. A. Galatenko, D. V. Kulyesh, V. D. Pinchuk, L. F. Narazhayko,
E. N. Karpik

Analysis of biocompatibility of silicone endoprotheses using tissue culture and by implantation test

Histotoxicity and biocompatibility of the material of breast implants are studied. The research in tissue culture showed that the membrane material of implants McGhan and Arion does not affect the dynamics and the nature of growth of cellular elements in the culture. It is determined that the anti-septic sterilizing processing of environments before applying the silicone material of endoprotheses leads to a reduction of inflammation around implants.