

Особливості реакції тканин щурів на імплантат із сітчастого поліуретану різної щільності з іммобілізованим дакарбазином

Н. А. Галатенко¹, д-р біол. наук, професор; Р. А. Рожнова¹, д-р хім. наук;
Д. В. Кулеш¹, канд. біол. наук; В. Д. Денисенко¹, мол. наук. співр.;
А. П. Малецький², д-р мед. наук, професор; Н. М. Бігун³, канд. мед. наук

¹ Інститут хімії
високомолекулярних
сполук НАН України
Київ (Україна)

² ДУ «Інститут очних хвороб
і тканинної терапії
ім. В.П. Філатова
НАМН України»
Одеса (Україна)

³ КНП ЛОР «Львівська
обласна клінічна лікарня»
Львів (Україна)

Ключові слова:

імплантат на основі сітчастого
поліуретану, депонування і дифузії
дакарбазину, реакція клітин

Актуальність. Відновлюючі операції на орбіті та окулоорбітальній ділянці потребують імплантуючі матеріали, які містили в собі протимікробні та протипухлинні лікарські препарати.

Мета – вивчити особливості реакції тканин щурів на імплантат з сітчастого поліуретану різної щільності з іммобілізованим дакарбазином.

Матеріал і методи. Об'єктом досліджень були імплантати з пінополіуретансечовини (ППУС) з іммобілізованим дакарбазином (ДК), в яких вивчали динаміку вивільнення ДК в розчин. Вивчали клітинні реакції м'яких тканин на імплантацію розроблених композиційних матеріалів на щурах лінії Wistar.

Результати. Встановлено, що кількість відкритих пор впливає на приживлення імплантатів. Показано, що динаміки вивільнення ДК зі зразків ППУС 0,5 та 1 мас. % на 1-3 добу інкубації особливо не відрізнялося, а на 5, 7, та 14 добу - спостерігалось збільшення вивільнення зі зразків ППУС з 1 мас. % ДК, який становив 64 % тоді як з 0,5 мас. % ДК становив 55 %.

При імплантації ППУС під шкіру тварин гістологічні дослідження показали, що навколо імплантату на 3 добу формувалась капсула і густа сітка кровоносних судин, а на 7 добу дослідження спостерігалось відмежування імплантованого матеріалу від оточуючих тканин широким лейкоцитарним валом та товстою сполучнотканинною капсулою (СТК).

Висновки. Встановлено, що кількість відкритих пор суттєво впливає на вивільнення ДК та швидкість проростання сполучної тканини в пористий матрикс. Встановлено, що на ранніх термінах дослідження і на 30 добу навколо всіх імплантатів формування СТК, а наявність ДК – призводило до тривалих клітинних реакцій запального процесу в зоні розміщення імплантату.

Актуальність. Черепно-лицеві пошкодження становлять 29% від загального травматизму [6, 7] і основною їх причиною є техногенні та кримінальні травми ока та орбіти. У зв'язку з цим збільшується необхідність відновлюючих і реконструктивних операцій на орбіті, її придатках та окулоорбітальній ділянці [10, 18], в тому числі після офтальмоонкологічних операцій. Слід зазначити, що важливим моментом є запобігання виникнення навколо імплантату запальної реакції, а після видалення злоякісної пухлини її рецидиву, в зв'язку з цим важливо, щоб імплантуючі матеріали містили в собі протимікробні та протипухлинні лікарські препарати.

Застосування біологічних тканин в якості пластичного матеріалу не завжди задовольняє хірурга, крім того, з кожним роком збільшуються юридичні вимоги до взяття донорського матеріалу. Тому створення синтетичних полімерних матеріалів для відновлення анатомо-функціональних порушень є актуальною задачею.

Останнім часом досягнуті великі успіхи у синтезі біосумісних полімерних матеріалів для застосування в медицині [1, 16]. Здійснена можливість надання

полімерним імплантатам лікувальних властивостей в результаті хімічного та фізичного зв'язування з ними біологічно активних речовин [2, 5]. За своєю структурою полімерні ланцюги полімерних матеріалів можуть бути лінійними, сильно або слабо розгалуженими, або представляти собою просторову сітку. Хімічна будова і структура макромолекул полімерів визначає комплекс механічних і фізико-хімічних властивостей полімерних матеріалів [13, 19].

Надання імплантату лікувальних властивостей – один з основних напрямків в полімерній хімії. При цьому лікарський препарат не зв'язаний з полімерними молекулами, поступово дифундує в середовище організму при імплантації енопротезу, лікарський препарат зв'язаний з полімерною молекулою характеризується більш пролонгованим вивільненням в оточуючі тканини [4, 9, 14, 15].

Імплантати тимчасової дії при перебуванні в організмі повинні постійно руйнуватися та одночасно замі-

щатися тканинним регенератом з врахуванням місцевої дії лікарського препарату для конкретної патології. Слід відмітити, що процес біодеградації полімерного імплантаційного матеріалу може залежити від пористості матеріалу, що в свою чергу призводить до різної біологічної дії на оточуючі тканини.

З огляду на можливість застосування запропонованих поліуретанових полімерів при створенні імплантатів, що матимуть здатність депонувати лікарські препарати, насамперед протипухлинні, нам представилося доцільним провести дослідження дифузійних властивостей поліуретанових полімерів з різною щільністю та з іммобілізованими дакарбазином та вивчити реакцію тканин щурів на нього.

Відомо, що пористість може суттєво впливати на біосумісність та біоінтеграцію імплантаційних матеріалів [17]. Відкрита пористість в імплантатах сприяє проростанню живих тканин організму в структуру матеріалу, що покращує приживлення, та дозволяє досягти найкращої фіксації імплантатів, а еластичність структури таких систем, в деяких випадках, може сприяти зменшенню тиску на оточуючі тканини та зниженню їх пошкодження. У випадку використання поліуретанових імплантатів відбувається процес їх біодеструкції під впливом внутрішнього середовища організму та більш швидка інтеграція з тканинами, а пролонговане вивільнення іммобілізованих біологічно активних речовин в оточуючі тканини, що сприяє менш вираженим клітинним реакціям та швидкій реабілітації [4, 20].

Для вирішення поставленої задачі був проведений підбір оптимального співвідношення інгредієнтів для синтезу ряду ППУС, як депо лікарського препарату [20].

Мета дослідження - вивчити особливості реакції тканинщурів на імплантат з сітчастого поліуретану різної щільності з іммобілізованим дакарбазином.

Матеріал і методи

Об'єктом досліджень були пінополіуретансечовини (ППУС), отримані на суміші олігоуретандіізоціанатів різної молекулярної маси з іммобілізованою лікарською речовиною – дакарбазином (ДК) в кількості 0,5 та 1 мас. %. ДК відноситься доалкілюючих цитостатичних засобів триазенової структури, механізм дії яких зумовлений здатністю основного метаболіту – діазометану утворювати ковалентні алкільні зв'язки з молекулами, що містять електронні центри, як наприклад, SH-групи. Оскільки препарат є структурним аналогом пуринових основ, він діє як антиметаболіт, пригнічуючи синтез ДНК у клітинах пухлин. ДК зважували у кількості, що становила 0,5 та 1 мас. %, розчиняли його у дистильованій воді, після чого додавали суміш олігоуретандіізоціанатів, прискорювач полімеризації 606/2 та проводили змішування компонентів. Спінені композиції витримували в термостаті за температури +25°C до повного тужавіння (втрати липкості). Був



Рис. 1. Дрібнопористий зразок ППУС з 1 мас. % ДК.

отриманий ряд зразків ППУС з вмістом ДК 0,5 та 1 мас. %. Зразки ППУС без лікарського препарату слугували як контроль. Отримані, таким чином, ППУС мали вигляд дрібнопористих еластичних губок (рис. 1).

Дослідження пористості зразків ППУС

В дослідженнях проводили визначення загальної пористості (ступеню заповнення загального об'єму матеріалу порами) та дослідження відкритої пористості (кількості пор матеріалу, що сполучаються з зовнішнім середовищем) в отриманих зразках ППУС. Загальну (істинну) пористість (об'єм пор в даному об'ємі матеріалу) визначали за формулою:

$$P_{\text{заг}} = (1 - \rho_c / \rho) \times 100,$$

де $\rho_c = m / V$ – середня густина матеріалу (m – маса матеріалу, V – об'єм матеріалу);

ρ – істинна густина матеріалу без врахування пор та пустот (для клейкої композиції на суміші олігоуретандіізоціанатів = 1,14).

Для підрахунку відкритої пористості матеріалу проводили вимірювання водопоглинання зразків:

$$P_{\text{відкр.}} = \left(\frac{m_2 - m_1}{V} \right) \cdot \left(\frac{1}{\rho_w} \right) \cdot 100$$

де m_1 та m_2 – маса зразка відповідно в насиченому водою та сухому стані;

V – об'єм матеріалу;

w – густина води.

Дослідження динаміки вивільнення

Важливим етапом дослідження полімерних матеріалів з біологічною активністю є вивчення динаміки вивільнення лікарських речовин *in vitro*. Динаміку вивільнення ДК зі зразків ППУС в розчин вивчали спектрофотометричним методом. Для дослідження динаміки вивільнення ДК були отримані ППУС з 0,5 та 1 мас. % ДК. Для оцінки статистичної вірогідності досліджували по 3 зразки кожної серії, та контрольний зразок ППУС без ДК. Для цього кожен зразок поміщали в бокс з притертою пробкою, додавали по 20 мл дистильованої води та інкубували в термостаті при температурі 37±1°C. Періодично екстракти зливали та реєстрували оптичну густина на спектрофотометрі. Як розчин порівняння застосовували екстракт з контрольного зразка.

Гістологічні дослідження

Вивчення клітинних реакцій м'яких тканин на імплантацію розроблених композиційних матеріалів та оцінка їх біосумісності проводилася за допомогою імплантаційного тесту в організмі лабораторних щурів лінії Wistar вагою 200-230 г. Тварин було поділено на три групи по 12 тварин у кожній: 1-й – імплантували зразки ППУС без ДК; 2-гій – зразки ППУС з 0,5 мас. % ДК; 3-тій – зразки ППУС з 1 мас. % ДК.

Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводилися під наркозом, а також з дотриманням принципів, викладених в Європейській конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей [21]. Модельні операції на лабораторних тваринах виконувалися в асептичних умовах. Після обробки операційного поля зразки ППУС розміром (10x5x5) мм поміщалися підшкірно в область міжлопаткового простору без додаткової фіксації, для виключення впливу шовного матеріалу на рановий процес. Така область характеризується малою рухливістю і недоступністю для самої тварини, що зводить до мінімуму ризик її втручання в експериментальний процес. Тварин виводили з експерименту на 7, 14, 30 та 90 доби після операції шляхом передозування хлороформом. Дослідний матеріал (полімерний зразок з оточуючою сполучною тканиною) фіксували в 10% розчині формаліну та заливали в парафін після проведеної гістологічної обробки за стандартною методикою [11]. Парафінові зрізи, виготовлені за допомогою мікротому, товщиною 10-15 мкм, забарвлювали гематоксиліном та еозином. Оцінка біосумісності імплантованих композиційних матеріалів проводилася шляхом аналізу гістологічних препаратів за допомогою світлової мікроскопії.

Результати

Дослідження пористості зразків ППУС

Загальна пористість отриманих зразків ППУС різного складу була майже однаковою та становила від 73,7 до 75,5 %, а відкрита пористість зразків ППУС залежала від наявності ДК в композиційному матеріалі та його кількості (табл. 1).

Треба відмітити, що відкрита пористість суттєво зменшувалася в зразках ППУС з 1 мас. % ДК на відміну від контрольних зразків та зразків ППУС з 0,5 мас. % ДК. Кількість відкритих та закритих пор у зразках ППУС з 1 мас. % ДК була майже рівною, що може сприяти більш поступовому просочуванню в структу-

Таблиця 1. Визначення загальної та відкритої пористості зразків ППУС

Зразок	П _{заг.} , %	П _{відкр.} , %
ППУС без ДК	75,5	58,2
ППУС з 0,5 мас. % ДК	73,7	69,4
ППУС з 1 мас. % ДК	74,0	50,6

ру імплантованих зразків тканинної рідини та випадання фібрину, забезпечуючи основу для формування тканинної структури. Тому кількість відкритих пор можливо має важливе значення на початкових етапах після імплантації, дозволяючи впливати не тільки на фіксацію пористих матеріалів, а й, в подальшому, на приживлення імплантатів.

Дослідження динаміки вивільнення ДК зі зразків ППУС in vitro

УФ-спектри поглинання досліджуваних екстрактів до і після експозиції полімерних зразків у вказаних умовах були ідентичні спектру ДК. Спектр поглинання ДК мав максимум при довжині хвилі $\lambda=(329\pm 2)$ нм). За результатами дослідження динаміки вивільнення ДК зі зразків ППУС встановлено, що на 1-3 добу інкубації вивільнення лікарської речовини для обох серій зразків особливо не відрізнялося одне від одного. На 5, 7, та 14 добу дослідження спостерігалось збільшення відсотку вивільнення зі зразків ППУС з 1 мас. % ДК, який становив 64 % на відміну від зразків ППУС з 0,5 мас. % ДК, де відсоток вивільнення ДК знаходився в межах 55 %.

Результати дослідження динаміки вивільнення наведені на рис. 2.

Гістологічні дослідження

Під час експерименту вивчалися поведінкова реакція тварин, їх зовнішній стан, післяопераційне поле. Щоденна візуальна оцінка реакції епітелію на операційному місці показала, що рана загоювалася протягом 3 діб після операції без ознак запальної реакції. За морфологічними ознаками не було виявлено дегенеративних змін, пухлин, некрозу тканин ні у раньому, ні у віддаленому післяопераційному періоді. Протягом всього часу експерименту імплантовані матеріали пальпувалися через шкіру тварин. Імплантація досліджуваних зразків не викликала агресії та змін у поведінці експериментальних тварин.

Макроскопічно при заборі матеріалу для досліджень навколо всіх зразків ППУС спостерігалось фор-

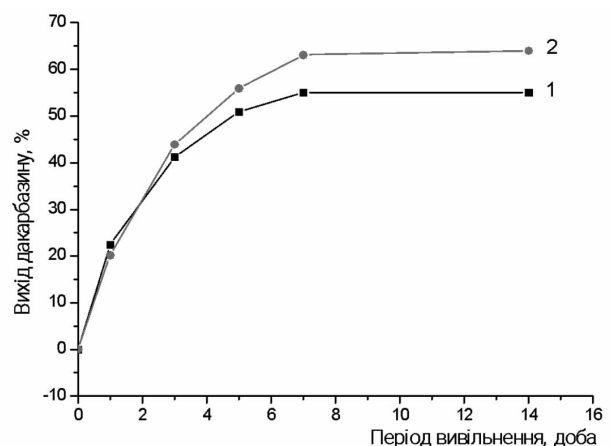


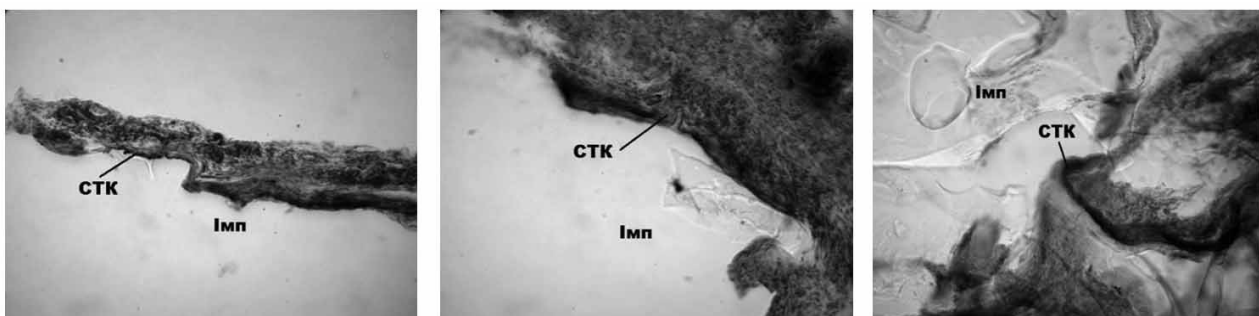
Рис. 2. Динаміка вивільнення ДК зі зразків ППУС in vitro
1 – ППУС з 0,5 мас. % ДК, 2 – ППУС з 1 мас. % ДК

мування сполучнотканинних капсул (СТК) без ознак вираженої запальної реакції. Капсули оточували пористі імпланти, надійно фіксуючи їх в місці імплантації та унеможливаючи їх зміщення або міграцію в підшкірному просторі протягом всього терміну експерименту. В місці імплантації зразків ППУС були відсутні морфологічно видимі зміни оточуючих тканин, некроз, ексудація, нагноєння тощо. Навколо всіх імплантованих зразків ППУС виявлялася густа сітка кровоносних судин та спостерігалася збільшення товщини та щільності окремих СТК на більш пізніх термінах дослідження.

Мікроскопічно через 7 діб після операції навколо імплантованих зразків ППУС без ДК виявлялася незріла СТК, клітинний склад якої був представлений поліморфноядерними нейтрофілами, моноцитарно-макрофагальними елементами, молодими формами фібробластів (рис. 3, а). Локально на невеликих ділянках капсули були присутні фібробласти витягнутої веретеноподібної форми, що знаходилися в товщі пучків зрілих колагенових волокон. У полі зору спостерігалася значна кількість новоутворених кровоносних судин малого та середнього калібру, що мали розширений просвіт та були повнокровні, в окремих судинах були ознаки стазу та тромбозу. Навколо імплантованих зразків ППУС з 0,5 мас. % ДК на аналогічному терміні дослідження спостерігалася відмежування імплантованого матеріалу від оточуючих тканин широким лейкоцитарним валом та товстою СТК. У складі капсули спостерігалася клітини круглоклітинного ряду, в основному, нейтрофіли та лімфоцити, а також була яскраво виражена моноцитарно-макрофагальна інфільтрація (рис. 3, б). Поряд були присутні молоді форми фібробластичних елементів, малодиференційовані клітини. На невеликих ділянках капсули характерними були веретеноподібні фібробласти, що лежали в товщі пучків зрілих колагенових волокон. Кровоносні судини були представлені у великій кількості, деякі з них були повнокровні та розширені, окремі судини були з елементами стазу та тромбозу. Через 7 діб після імплантації навколо зразків ППУС з 1 мас. % ДК спостерігалася також формування широкого лейкоцитарного валу та

утворення доволі товстої СТК, як і навколо зразків ППУС з 1 мас. % ДК. Основними клітинними елементами були нейтрофіли, макрофаги, а також молоді форми фібробластичних елементів (рис. 3, в). На окремих ділянках капсули спостерігалася активація проліферативних процесів за рахунок активного синтезу фібробластами компонентів екстрацелюлярного матриксу та пучків зрілих колагенових волокон. Кількість кровоносних судин була незначною, всі вони характеризувалися нормальними мікроциркуляторними процесами.

Через 14 діб після операції навколо зразків ППУС без ДК спостерігалася збільшення товщини сформованих СТК. Характерним було збільшення кількості макрофагів, в порівнянні з попереднім терміном дослідження, що свідчило про активацію фагоцитарних процесів. Крім цього, спостерігалися локально виражені нейтрофільна та лімфоцитарна інфільтрації, молоді форми фібробластичних елементів. На окремих ділянках капсула була більш зрілою, спостерігалися витягнуті веретеноподібні фібробласти, що розташовувалися в товщі пучків зрілих колагенових волокон. На даному терміні дослідження характерним було виражене вип'ячування та проростання тяжів сполучної тканини вглиб мікропористого полімерного зразка (рис. 4, а). Кількість кровоносних судин залишалася високою, деякі з судин були повнокровні з елементами стазу та тромбозу. Через 14 діб після операції навколо імплантованих зразків ППУС з 0,5 мас. % ДК спостерігалася більш тонка та сформована СТК, в порівнянні з капсулою, утвореною навколо імплантованих зразків МДІ+ПП без ДК на аналогічному терміні дослідження. Внутрішній шар капсули характеризувався наявністю яскраво вираженої круглоклітинної реакції, в основному нейтрофілів та макрофагів, а подекуди і незначної лімфоцитарної інфільтрації. Зовнішній шар капсули складався з пучків зрілих хвилястих колагенових волокон та видовжених веретеноподібних фібробластів між ними (рис. 4, б). Кількість кровоносних судин суттєво зменшувалася, в порівнянні з попереднім терміном дослідження, за рахунок їх редукції, а мікроциркуляторні процеси в них були в нормі. Через 14 діб після операції навколо імплантованих зразків ППУС з



а) ППУС без ДК

б) ППУС з 0,5 мас. % ДК

в) ППУС з 1 мас. % ДК

Рис. 3. СТК навколо імплантованих зразків (Імп) на 7 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозиним. $\times 200$

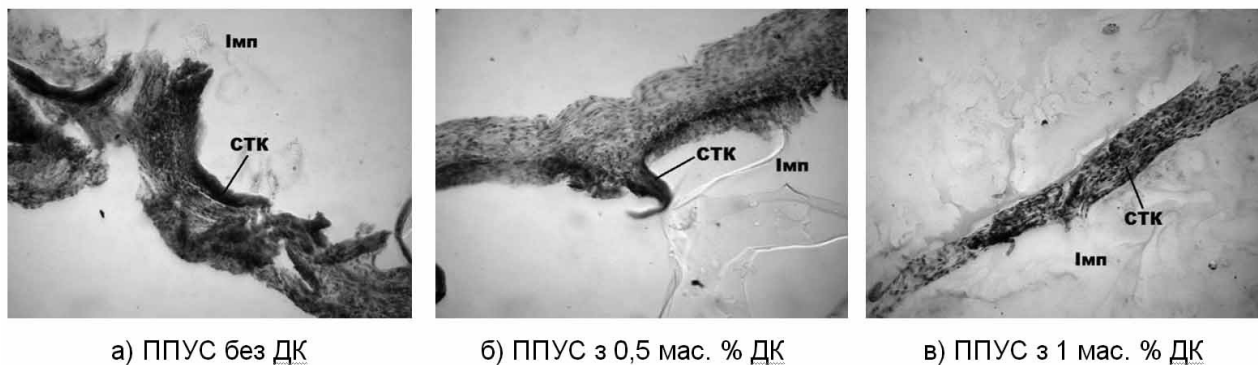


Рис. 4. СТК навколо імпантованих зразків (Імп) на 14 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$

1 мас. % ДК спостерігалось формування СТК різного ступеню зрілості. Так на одних ділянках капсула складалась з пучків хвилястих колагенових волокон та видовжених веретеноподібних фібробластів між ними (рис. 4, в), на інших була наявна інтенсивна нейтрофільна інфільтрація з одночасним посиленням реакції моноцитарно-макрофагальних елементів. Кількість кровоносних судин була помірною, мікроциркуляторні процеси в них були в нормі.

Через 30 діб після операції навколо зразка ППУС без ДК спостерігалось дозрівання СТК за рахунок активного синтезу фібробластами колагенових волокон та компонентів екстрацелюлярного матриксу (рис. 5, а). Клітинний склад капсули був не однаковий та відрізнявся по всій своїй протяжності. На одних ділянках характерною була яскраво виражені лейкоцитарна та макрофагальна інфільтрації. На інших – були наявні молоді форми фібробластичних елементів та фібробласти веретеноподібної форми, що знаходилися в товщі пучків зрілих колагенових волокон. Кількість кровоносних судин була незначною, мікроциркуляторні процеси в них були без порушень. Через 30 діб після операції навколо зразків ППУС з 0,5 мас. % ДК спостерігалось збільшення інтенсивності запальних клітинних реакцій в пористій структурі імпантованих зразків (рис. 5, б). Відбувалось різке збільшення кіль-

кості нейтрофілів, лімфоцитів та макрофагів. Кількість кровоносних судин суттєво не зростала в порівнянні з попереднім терміном дослідження, а самі судини характеризувалися мікроциркуляторними процесами без патологічних відхилень. Спостерігалось поодинокі судини, просвіт яких був розширений, відмічався стаз та тромбоз таких судин. Через 30 діб після операції навколо імпантованих зразків ППУС з 1 мас. % ДК спостерігалось формування досить тонкої СТК, клітинний склад якої був представлений фібробластичними елементами з посиленою синтетичною активністю, що активно продукували колаген та компоненти екстрацелюлярного матриксу. Кількість макрофагів залишалась досить високою на даному терміні дослідження (рис. 5, в). Кількість кровоносних судин була невеликою, мікроциркуляторні процеси в них були в нормі. Спостерігалось поодинокі судини, просвіт яких був розширений та спостерігалось крайове стояння лейкоцитів, без стазу та тромбозу.

Через 90 діб після операції навколо імпантованих зразків ППУС без ДК спостерігалась СТК, що мала високий ступінь зрілості та організації по всій своїй протяжності. Капсула складалась з пучків хвилястих колагенових волокон з веретеноподібними фібробластами між ними, при цьому спостерігалось збільшення щільності капсули за рахунок синтетичної активності

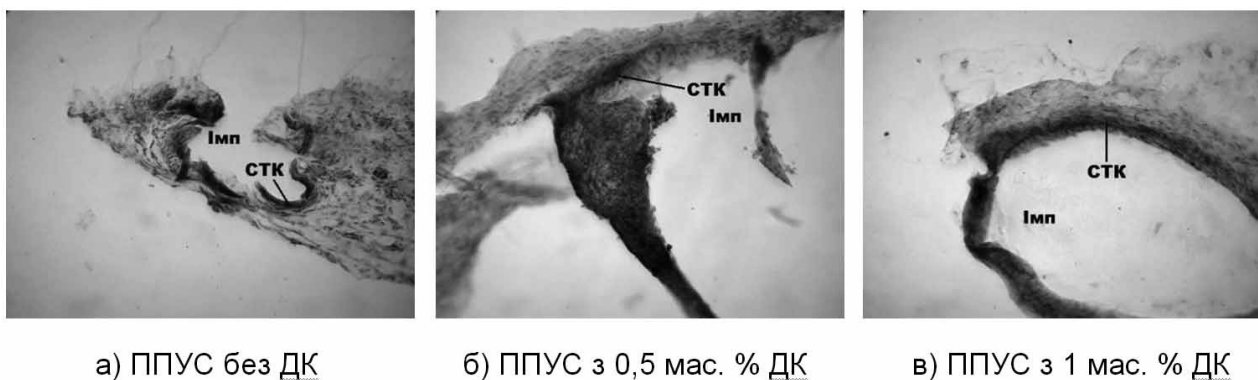
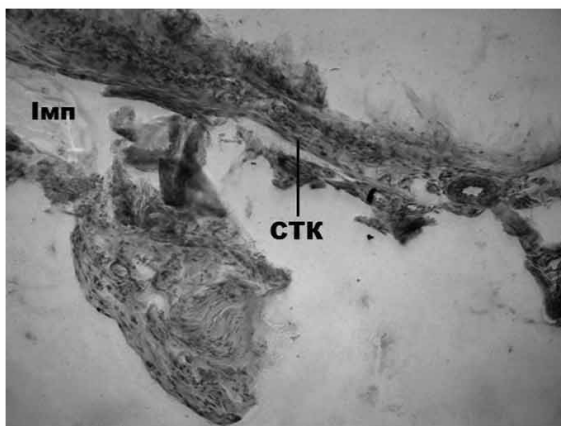


Рис. 5. СТК навколо імпантованого імпантату зразка ППУС без ДК на 30 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$

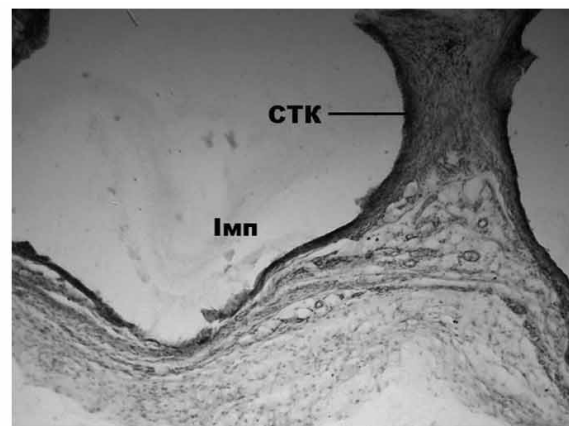
фіброblastів. На окремих ділянках капсули характерними були незначні осередки макрофагів з високою фагоцитарною активністю (рис. 6, а). Через 90 діб після операції навколо імпантованих зразків ППУС з 0,5 мас. % ДК характерним було формування СТК досить високого ступеню зрілості. Клітини запального ряду були представлені в незначній кількості, а основними клітинними елементами були фіброblastи веретеноподібної форми, що лежали в товщі пучків зрілих колагенових волокон. На окремих ділянках капсули характерними були незначні осередки макрофагів з високою фагоцитарною активністю, що може бути пояснено реакцією оточуючих тканин на наявність чужорідного для організму тіла, а також може бути свідченням активності процесу біодеградації імпантованих зразків. Тяжі сполучної тканини ставали більш розгалуженими та проростали вглиб полімерних зразків (рис. 6, б). Кількість кровоносних судин була помірною, мікроциркуляторні процеси в них були в нормі. Через 90 діб після операції навколо імпантованих зразків ППУС з 1 мас. % ДК спостерігалася клітинні реакції, подібні до реакцій навколо зразків ППУС з 0,5 мас. % на аналогічному терміні дослідження. Так, навколо імпантованих зразків характерним було формування СТК високого ступеню зрілості та організації по всій своїй протяжності. Клітини запального ряду були представлені в незначній кількості, а основними клітинними елементами були фіброblastи веретеноподібної форми, що лежали в товщі пучків зрілих колагенових волокон. На окремих ділянках капсули також характерними були локальні осередки макрофагів з високою фагоцитарною активністю. Тяжі сполучної тканини ставали ще більш розгалуженими та проростали у глибину полімерних зразків. Кількість кровоносних судин була незначною, мікроциркуляторні процеси в них були без порушень.

Таким чином, клітинні реакції тканин експериментальних тварин на імпантацію зразків ППУС без

ДК, ППУС з 0,5 та 1 мас. % ДК були типовими для реакції живого організму на присутність чужорідного тіла при підшкірній імпантації та не призводили до патологічних процесів в оточуючих тканинах. На початкових термінах дослідження за рахунок наявності пор в структурі імпантованих зразків ППУС починалася міграція та адгезія клітин на внутрішніх поверхнях пор, що слугувало каркасом для формування тяжів сполучної тканини. Гістологічними методами показано, що вже через 7 діб після операції відбувалося відокремлення імпантованих зразків від оточуючих тканин шляхом формування захисного широкого лейкоцитарного валу з одночасним утворенням СТК, що відмежовувала чужорідний для організму імпантаційний матеріал. Формування СТК навколо зразків ППУС різного складу та пористості було цілком закономірним, біологічно детермінованим і прогнозованим процесом. Клітинні реакції на ранніх термінах дослідження навколо зразків з ДК мали більшу реактивність та інтенсивність, ніж навколо зразків ППУС без ДК. Характерними були яскраво виражені нейтрофільна та лімфоцитарна інфільтрації, спостерігалася інтенсивна моноцитарно-макрофагальна реакція. При цьому навколо всіх зразків відбувався активний процес ангіогенезу, що сприяв виведенню продуктів метаболізму з вогнища запалення. Показано, що іммобілізований на ППУС ДК, пролонговано звільнявся в оточуючі імпантований зразок тканини, проявляючи біологічну активність та збільшуючи тривалість запального процесу в зоні розміщення імпантату за рахунок підвищеної реактивності клітинних реакцій. Поступово після 30 добу експерименту спостерігалася нормалізація клітинних реакцій навколо майже всіх імпантованих зразків з формуванням зрілої СТК з фіброblastами, що активно синтезували колагенові волокна та інші компоненти екстрацелюлярного матриксу. Пориста структура зразків ППУС сприяла клітинам оточуючих тканин поступово проникати у глибину імпантованих



а) ППУС без ДК



б) ППУС з 0,5 мас. % ДК

Рис. 6. СТК навколо імпантованих зразків імпантату на 90 добу експерименту. Забарвлення гематоксилином і еозинном. $\times 200$.

зразків, викликаючи розвиток різної за інтенсивністю нейтрофільної та лімфоцитарної інфільтрації в їх структурі, а також протікання вираженої макрофагальної реакції на всіх термінах дослідження. Макрофаги, брали активну участь у процесі реалізації захисно-компенсаторних механізмів, реагуючи на наявність чужорідних тіл в живому організмі.

Обговорення

Створення та впровадження в медичну практику синтетичних полімерних матеріалів є сучасною вимогою медицини [5]. Імплантаційні матеріали на основі полімерів здатні повністю задовольняти вимоги до матеріалів медичного призначення та характеризуються широким діапазоном варіювання їх основних характеристик, що ведуть до підвищення їх біосумісності та біоінтеграції в місці застосування [1, 16]. Відомо, що просторова пористість імплантаційних матеріалів сприяє проростанню оточуючих тканин живого організму в структуру матеріалу, що покращує приживлення, дозволяючи досягти найкращої фіксації імплантатів, а еластичність структури таких систем, в деяких випадках, може сприяти зменшенню тиску на оточуючі тканини та зниженню рівня їх пошкодження [17]. Імобілізація лікарських препаратів на пінополіуретанових носіях, на нашу думку, є наразі актуальним завданням, що спрямоване на отримання біосумісних імплантатів для проведення відновлювальних та реконструктивних операцій в медицині. Такі матеріали за сукупністю основних характеристик дозволять не тільки покращити їх експлуатаційні властивості в місці застосування, а й нададуть можливість зменшення токсичності іммобілізованого лікарського препарату та пролонгації його вивільнення.

З огляду на перспективність в розробці таких імплантаційних матеріалів, нам представилось доцільним провести підбір оптимального співвідношення компонентів для синтезу ряду пінополіуретансечовин з іммобілізованими дакарбазином. Результати проведеного дослідження пористості зразків пінополіуретансечовин з 0,5 та 1 мас. % дакарбазину демонструють, що їх загальна пористість була різною та складала від 73,7 до 75,5 %, а відкрита пористість коливалася від 50,6 до 69,4%. Кількість мілких відкритих пор в зразках пінополіуретансечовин з 1 мас. % дакарбазину становила близько 50% від їх загальної кількості та могла суттєво впливати на морфологічні особливості протікання клітинних реакцій та подальшу проліферацію клітин шляхом інтенсивного проростання сполучної тканини в пористий матрикс. Динаміка вивільнення дакарбазину зі зразків пінополіуретансечовин з 0,5 та 1 мас. % дакарбазину відрізнялася одна від одної. Більш повне та пролонговане звільнення дакарбазину спостерігалось зі зразків пінополіуретансечовин з 1 мас. % дакарбазину та становило 64 % протягом 14 діб. Проаналізовано клітинні реакції м'яких тканин експериментальних тварин на імплантацію отриманих зразків та показано, що вже на ранніх термінах дослідження навколо всіх

імплантованих зразків відбувалося формування сполучнотканинної капсули, що повністю відмежовували їх від оточуючих тканин. До 30 доби експерименту спостерігалось формування зрілих сполучнотканинної капсули, яка складалася, переважно з фібробластів, які активно синтезували колагенові волокна та інші компоненти екстрацелюлярного матриксу. Показано, що наявність дакарбазину у складі композиційних матеріалів призводило до тривалих клітинних реакцій запального процесу в зоні розміщення імплантату, що, ймовірно, пов'язано з біологічною дією самого лікарського препарату. Такий перебіг клітинних реакцій може бути вдало використаний при застосуванні даного складу композиційного матеріалу при проведенні відновлювальних та реконструктивних операцій після видалення злоякісних пухлин.

Висновки

1. Загальна пористість отриманих зразків ППУС була різною та складала від 73,7 до 75,5 %, а відкрита пористість коливалася від 50,6 до 69,4%. Кількість мілких відкритих пор в зразках ППУС з 1 мас. % ДК становила близько 50% від їх загальної кількості та могла суттєво впливати на морфологічні особливості перебігу клітинних реакцій та подальшу проліферацію клітин шляхом інтенсивного проростання сполучної тканини в пористий матрикс.

2. Динаміка звільнення ДК зі зразків ППУС з 0,5 та 1 мас. % ДК відрізнялася одна від одної. Більш повне та пролонговане звільнення ДК спостерігалось зі зразків ППУС з 1 мас. % ДК та становило 64 % протягом 14 діб.

3. Навколо всіх імплантованих зразків вже на ранніх термінах дослідження відбувалося формування СТК, що повністю відмежовували їх від оточуючих тканин. До 30 доби експерименту спостерігалось формування зрілих СТК, яка складалася, переважно з фібробластів, які активно синтезували колагенові волокна та інші компоненти екстрацелюлярного матриксу.

4. Наявність ДК у складі композиційних матеріалів призводило до тривалих клітинних реакцій запального процесу в зоні розміщення імплантату, що, ймовірно, пов'язано з біологічною дією самого лікарського препарату. Такий перебіг клітинних реакцій може бути вдало використаний при застосуванні даного складу композиційного матеріалу при проведенні відновлювальних та реконструктивних операцій після видалення злоякісних пухлин.

Література

1. Биосовместимые материалы: Учебное пособие /Под ред. В.И. Севастьянова, М.П. Кирпичникова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2011 – 544 с.
2. Біотехнологія: Підручник /В.Г. Герасименко, М.О. Герасименко, М.І. Цвіліховський та ін.; Під заг. ред. В.Г. Герасименка. – К.: Фірма «ІНККОС», 2006. – 647 с.
3. Вплив модельного біологічного середовища на структуру та властивості композиційних матеріалів з левамизолом і

- на динаміку вивільнення лікарської речовини /Т.В. Руденчик, Р.А. Рожнова, Н.А. Галатенко, Л.Ю. Нечаєва // Вопросы химии и химической технологии. – 2018. – № 5. – С.140-148.
4. Вплив модельного середовища на структуру та властивості композиційних матеріалів з доксорубіцином на основі поліуретанів з ізоціануратними фрагментами / Г. А. Козлова, Р. А. Рожнова, Л. Ю. Нечаєва, Н. А. Галатенко, С. О. Примушко // Полімерний журнал. – 2021. – Т. 43, № 1. – С. 54-63.
 5. **Галатенко Н.А.** Биологически активные полимерные материалы для медицины / Н.А. Галатенко, Р.А. Рожнова. – К., Наукова думка, 2013. – 211 с.
 6. **Груша О. В.** 500 пластик орбиты. Анализ осложнений / О. В. Груша, Я. О. Груша // 8 Съезд офтальмологов России : материалы. – М., 2005. – С. 641.
 7. **Гундорова Р. А.** Травмы глаза. / Р. А. Гундорова, В. В. Нероев, В. В. Кашников // М., 2009. – С. 560.
 8. **Денисенко В.Д., Галатенко Н.А., Рожнова Р.А., Нечаєва Л.Ю.** Поліуретанові композиції з дакарбазином медичного призначення на основі пінополіуретансечовин //Матеріали І Міжнародної наукової конференції “Теоретичні та експериментальні аспекти сучасної хімії та матеріалів” присвячена 100-річчю Дніпровського державного аграрно-економічного університету 20 травня 2022 р. – С.32-35.
 9. Динаміка вивільнення синтетичного імуностимулятора метилурацилу з полімерної композиції, призначеної для імплантації в умовах *in vitro* / Д.В. Кулеш, Л.Ю. Нечаєва, Н.А. Галатенко // Доповіді Національної академії наук України. – 2015. – № 3. – С. 122-126.
 10. **Красновид Т. А.** Глазной травматизм в современных условиях. Оказание ургентной помощи в Украине /Т. А. Красновид // Научно-практ. конф. офтальмологов Черниговской, Киевской, Полтавской, Сумской и Черкасской областей Украины, 12-13 сентября, 2013г. : материалы. – Чернигов, 2013. – С. 40-44.
 11. Методики морфологічних досліджень: монографія / Багрій М. М., Діброва В. А., Попадинець О. Г., Гришук М. І.; за ред. М. М. Багрія, В. А. Діброви. – Вінниця: Нова книга, 2016. – 328 с.
 12. **Панарин Е.Ф.** Полимеры – носители биологически активных соединений / Е.Ф. Панарин, Н.А. Лавров, М.В. Соловский, Л.И. Шалова. – 2014. – 304 с.
 13. **Руденчик Т.В.** Ненасыщенные эстери та полімерні матеріали на їх основі медичного призначення /Т.В. Руденчик, Р.А. Рожнова, Н.А. Галатенко // Полімерний журнал. – 2018. – Т. 40, № 4. – С. 216-229.
 14. **Руденчик Т.В.** Розробка композиційних матеріалів на основі олігооксипропіленфумарату, диметакрилат триетиленгліколю та стиролу з пролонгованим вивільненням левамізолу / Т.В. Руденчик, Р.А. Рожнова, Н.А. Галатенко, Л.Ю. Нечаєва, Т.О. Кісельова // Доповіді Національної академії наук України. – 2016. – № 11. – С. 78-86.
 15. Синтез і властивості композиційних матеріалів на основі поліуретансечовин з фрагментами кополімеру полівінілбутиралу (вінілацетату з вініловим спиртом) та лізоцимом / К. В. Стащенко, Т. В. Руденчик, Н. А. Галатенко, Р. А. Рожнова // Питання хімії та хімічної технології. – 2020. – № 1. – С. 71-79.
 16. **Уварова І.В., Максименко В.Б.** Биосовместимые материалы для медичних виробів / Навчальний посібник ФБМІ НТУУ «КПІ» – Київ: КІМ, 2013. – 232 с.
 17. **Ходоренко В.Н.** Биосовместимые пористые проницаемые материалы / В.Н. Ходоренко, Ю.Ф. Ясенчук, В.Э. Гюнтер // Биосовместимые материалы и имплантаты с памятью формы. – Томск: Нортхэмптон, 2001. – С.9-24.
 18. **Целомудрый А. И.** Особенности хирургической реабилитации военнослужащих с боевыми ранениями глаз в современных условиях / А. И. Целомудрый, Г. Е. Венгер, А. В. Ризванюк, Д. Н. Погорельий, В. А. Путиенко // Філатовські читання – 2016 : наук.-практ. конф. з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня заснування Інституту ім. В. П. Філатова НАМН України та XIV конгресу офтальмологічного товариства країн Причорномор'я: тези. – Одеса, 2016. – С.95.
 19. **Babker, Asaad Ma & Sotnik, Lana & Lyashenko, Vyacheslav.** Polymeric Materials in Medicine // Scholars Journal of Applied Medical Sciences (SJAMS). – 20018. – Vol. 6 (10). – 21276 / sjams.2018.6.1.33.
 20. **Colnik, Maja & Knez Marevci, Masa & Škerget, Mojca & Knez, Željko.** Biodegradable polymers, current trends of research and their applications, a review // Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly. –2020. Vol. 26. – P. 16-18.
 21. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg; 1986. – 53 p.

Відомості про авторів та розкриття інформації

Автор для переписки: Малецький Анатолій Парфентійович, maletskiy@filatov.com.ua

Внесок кожного автора в роботу: Галатенко Н. А. розробка концепції, проектування, збір даних, аналіз і інтерпретація даних, підготовка рукопису/напис/рецензування; Рожнова Р. А. розробка концепції, проектування, аналіз і інтерпретація даних, підготовка рукопису/напис/рецензування; Кулеш Д. В. розробка концепції, проектування, збір даних і проведення досліджень, аналіз і інтерпретація даних, підготовка рукопису/напис/рецензування; Денисенко В.Д. – проведення досліджень, аналіз і інтерпретація даних, підготовка рукопису/напис; Малецький А. П. – розробка концепції, проектування, аналіз і інтерпретація даних, підготовка рукопису/напис/рецензування; Бігун Н. М. – аналіз і інтерпретація даних, підготовка рукопису/напис/рецензування. Усі автори проаналізували результати та погодили кінцевий варіант рукопису.

Декларація про конфлікт інтересів. Автори зазначають про відсутність конфлікту інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Джерела підтримки. Стаття є частиною науково-дослідницької роботи за тематикою «Формування полімерів різної просторової будови та композиції на їх основі для іммобілізації біологічно активних сполук та лікарських речовин», реєстраційний номер №0114U007099.

Відмова від відповідальності: представлені у статті міркування є виключно авторськими, а не є офіційною позицією фонду чи установи.

Дослідження проводилося на тваринах. Експеримент був виконаний відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовую-

ються для експериментів або в інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Абревіатури: ППУС – пінополіуретансечовина; ДК – дакарбазин; СТК – сполучнотканинна капсула; Імп – імплантований зразок;

Надійшла 01.07.2022

Особенности реакции тканей крыс на имплантат из сетчатого полиуретана разной плотности с иммобилизованным дакарбазином

Галатенко Н. А., Рожнова Р. А., Кулеш Д. В., Денисенко В. Д., Малецкий А. П., Бигун Н. Н.

Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины, Киев (Украина)

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины»; Одесса (Украина)

КНП ЛОР «Львовская областная клиническая больница», Львов (Украина)

Актуальность. Восстанавливающие операции на орбите и окулоорбитальной области нуждаются в имплантируемых материалах, которые содержат в себе противомикробные и противоопухолевые лекарственные препараты.

Цель – изучить особенности реакции тканей крыс на имплантат из сетчатого полиуретана разной плотности с иммобилизованным дакарбазином

Материал и методы. Объектом исследований были имплантаты из пенополиуретансечовины (ППУС) с иммобилизованным дакарбазином (ДК), в которых изучали динамику высвобождения ДК в раствор. Изучали клеточные реакции мягких тканей на имплантацию разработанных композиционных материалов на крысах линии Wistar.

Результаты. Установлено, что количество открытых пор влияет на приживление имплантатов. Показано, что динамика высвобождения ДК из образцов ППУС 0,5 и 1 мас. % на 1-3 сутки инкубации особо не

отличалось, а на 5, 7 и 14 сутки наблюдалось увеличение высвобождения из образцов ППУС с 1 мас. % ГК, который составил 64 % в сравнении с 0,5 мас. % ГК составил 55 %. При имплантации ППУС под кожу животных гистологические исследования показали, что вокруг имплантата на 3 сутки формировалась капсула и густая сетка кровеносных сосудов, а на 7 сутки исследования наблюдалось отграничение имплантированного материала от окружающих тканей широким лейкоцитарным валом и толстой соединительнотканной капсулой.

Выводы. Установлено, что количество открытых пор оказывает существенное влияние на высвобождение ДК и скорость прорастания соединительной ткани в пористый матрикс. Установлено, что на ранних сроках исследования и на 30 сутки вокруг всех имплантатов формирование СТК, а наличие ДК - приводило к длительным клеточным реакциям воспалительного процесса в зоне размещения имплантата.

Ключевые слова: имплантат на основе сетчатого полиуретана, депонирование и диффузия дакарбазина, реакция клеток