

**В.П. СИТНИКОВ, С.Ф. КУДАЙБЕРГЕНОВА, Б.И. НУГМАНОВ,  
С.В.ШИЛЬКО, ЭЛЬ-РЕФАЙ ХУСАМ, Э.А.НАДЫРОВ**

*КазНМУ им. С.Д.Асфендиярова, кафедра оториноларингологии, Казахстанско-Российский Медицинский Университет,  
Металлополимерный институт механических систем имени В.А.Белый Национальной Академии Беларуси*

### **БИОСОВМЕСТИМОСТЬ ПРОТЕЗОВ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО ФТОРОПЛАСТА С АЛМАЗОПОДОБНЫМ НАНОПОКРЫТИЕМ В ХИРУРГИИ УША (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

*В статье приведены общие и локальные особенности тканевых реакций экспериментальных животных (выборка составила 150 крыс поделенных на 3 группы) на импланты из радиационно-модифицированного фторопласта Ф-4РМ20 (на основе политетрафторэтилена ПТФЭ) с алмазоподобным нанопокрывтием и алмазоподобным покрытием с распределенными наноразмерными частицами серебра. Установлено, что морфологические особенности течения тканевых реакций на внедрение имплантов обоих видов однотипны и характеризуются формированием грануляционной ткани с последующим образованием фиброзной ткани на 60-е сутки эксперимента; имеется перспективность использования в микроотохирургии объемной и поверхностной модификации фторопласта Ф-4, обеспечивающей высокую биосовместимость, стабильность его формы и звукопроводимость без существенного изменения размеров и массы протезов.*

**Ключевые слова:** хирургия уха, импланты, биосовместимость, радиационно-модифицированный фторопласт, алмазоподобное покрытие, наночастицы серебра.

**Актуальность темы.** Среди полимерных материалов для реконструкции среднего уха при стапедопластике доминируют материалы на основе полиэтилена и особенно политетрафторэтилена (ПТФЭ) марок «тефлон» (США) и «фторопласт -4» (Россия). Биоинертность, эластичность и высокая технологичность полимерных имплантов делает возможным массовое изготовление недорогих протезов. Использование полимерных протезов предусматривает «поршневую» методику стапедопластики по Shea, преимуществом которой являются значительно меньший объем манипуляций в области окна преддверия, снижение травматичности и вероятности попадания крови в преддверие лабиринта [1].

Вместе с тем указанные материалы характеризуются вязкоупругостью и вязкопластичностью, что проявляется в ухудшении звукопроводения в результате необратимого изменения формы и жесткости протезов при длительном функционировании [2]. Эти материалы не обладают бактерицидной активностью, что может привести к угрозе инфицирования среднего уха [3, 4]. Так, наблюдение пациентов с тимпанальной и смешанной формами отосклероза после имплантации тефлоновых протезов в ряде случаев показало осложнения в виде нейросенсорной тугоухости и глухоты, а также образования послеоперационных гранулем барабанной полости [5,6], что явилось причиной повторных операций.

Так как реакция организма на имплант определяется в основном химическим составом и структурой его поверхностного слоя [7,8], регулирование биосовместимости имплантов может быть достигнуто модифицированием поверхности [9,10,11]. Предложен протез на основе биологически активного материала с нерастворимым и инертным мозаичным покрытием [12].

**Цель исследования** — установить общие и локальные особенности тканевых реакций экспериментальных животных (крыс) на импланты из радиационно-модифицированного фторопласта Ф-4РМ20 (на основе политетрафторэтилена ПТФЭ) с алмазоподобным нанопокрывтием и алмазоподобным покрытием с распределенными наноразмерными частицами серебра. В эксперименте использованы 150 белых беспородных крыс, разделенных на 3 группы по 50 животных. Экспериментальным животным 1-й группы подкожно имплантировали полоски фторопласта Ф-4РМ20 с алмазоподобным покрытием толщиной 5 нм; во 2-й группе имплантировали указанный полимерный материал с распределенными в покрытии наноразмерными частицами химически чистого серебра; в 3-й (контрольной) группе использовали полоски фторопласта Ф-4РМ20 без покрытия. Животные выводились из эксперимента на 7, 21, 30, 60-е сутки. Проводилось гистологическое исследование тканей, окружающих имплант, а также тканей легких, сердца, селезенки, печени и почек. Была установлена однотипность локальных тканевых реакций с тенденцией к меньшей выраженности грануляционно-рубцового процесса в случае использования имплантов с алмазоподобным покрытием, содержащим наноразмерные частицы серебра. Статистически значимой гиперплазии лимфоидной ткани селезенки, указывающей на активацию иммунной системы на введение имплантата, не установлено ни в одной группе животных. Таким образом, полимерные композиты в виде фторопласта Ф-4РМ20 с алмазоподобным покрытием толщиной 5 нм и аналогичным покрытием, содержащим наночастицы серебра, могут быть использованы в реконструктивной хирургии среднего уха как биосовместимые материалы, не вызывающие воспалительно-дегенеративных реакций.

#### **Задачи исследования:**

- обеспечение биосовместимости импланта при отсутствии локальной воспалительно-дегенеративной реакции в послеоперационном периоде, а также морфологических изменений в отдаленных жизненно важных органах;
- повышение звукопроводимости протеза в области высоких частот;
- сохранение стабильности формы и звукопроводимости импланта.

#### **Материал и методы**

Оценка биоинтеграционных свойств имплантов производилась по результатам гистологического исследования находящихся с ними в контакте биологических тканей, а также морфологическим изменениям в отдаленных жизненно важных органах, обеспечивающих гомеостаз реципиента [13].

В качестве основного материала (подложки) протеза использовали радиационно-модифицированный фторопласт марки Ф-4РМ20 в виде листа толщиной 0,8 мм (Россия, ФГУП «НИФХИ им. Л.Я. Карпова») [14], из которого вырезались полоски прямоугольного сечения. В табл. 1 дано сравнение механических характеристик фторопластов Ф-4 и Ф-4РМ20 по исходным данным [14,15]. Видно, что формостабильность протеза стремили после радиационного модифицирования ПТФЭ обеспечивается уменьшением деформации ползучести на два порядка при небольшом снижении прочности и эластичности.

Модифицирующее алмазоподобное покрытие наноразмерной толщины наносили в условиях импульсного катодно-дугового разряда в вакууме с эродирующим графитовым катодом путем формирования направленного к подложке потока плазмы и ее конденсации на подложке. С этой целью применяли вакуумную установку УВНИ-ПА-1-001 с газовым ионным источником ИИ-4-0,15.

Формирование композитного (металлополимерного) варианта биосовместимого покрытия производилось путем совместного использования-цилиндрического катода из высокочистого (99,999%) графита марок МПГ-6, МПГ-7 с измеренной плотностью 1,8 г/см<sup>3</sup> и металлического катода из химически чистого (99,99%) серебра.

Таблица 1 - Сопоставление упругих и вязкоупругих характеристик фторопласта Ф-4 до и после радиационного модифицирования

| Характеристика  | Ф-4     | Ф-4PM20 |
|---|---------|---------|
| Прочность при растяжении, МПа   | 20-25   | 15-20   |
| Относительное удлинение при разрыве, %  | 350-450 | 300-400 |
| Модуль упругости при растяжении, МПа  | 280     | 350     |
| Предел вынужденной эластичности, МПа  | 14      | 22      |
| Ползучесть при комнатной температуре при статической нагрузке, составляющей 70% от разрывной прочности, за 100 ч, % | 150     | 1-2     |

Размер и расположение наночастиц серебра контролировали методами растровой электронной микроскопии на растровом электронном микроскопе VEGA II LSH с системой энергодисперсионного микроанализа INCA ENERGY 250 ADD. На поверхности полимерного протеза сформировано сплошное алмазоподобное покрытие с равномерно распределенными наноразмерными частицами серебра.

Биологический эксперимент проводили на 150 белых беспородных крысах, обычно используемых для подобных исследований [16]. Возраст животных составлял 19—21 нед, масса 110—150 г. Они были объединены в три группы по 50 крыс в каждой. В 1-й группе животным имплантировали образец материала Ф-4PM20 с алмазоподобным покрытием толщиной 5 нм; во 2-й группе производилась имплантация Ф-4PM20 с аналогичным покрытием, содержащим наноразмерные частицы серебра; а в 3-й группе имплантировали Ф-4PM20 без покрытия.

Операцию проводили под галотановым наркозом. Выполнялся разрез на выбритой и асептически обработанной коже передней брюшной стенки. Образцы в виде полосок размером 10 на 5 мм сечением 1 мм в стерильных условиях имплантировали в подкожную клетчатку на глубину до 3 мм без дополнительной фиксации. После операции животных помещали в виварий, где они находились под постоянным наблюдением. На 7, 21, 30 и 60-е сутки их выводили из эксперимента методом декапитации под общим галотановым наркозом. По операционному рубцу открывалась рана, из которой удаляли импланты с прилегающими тканями. Извлеченный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формальдегида с последующей заливкой в парафин. Из блоков готовили срезы толщиной 5—6 мкм с последующим окрашиванием препаратов гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по ван Гизону.

Статистический анализ результатов исследований был выполнен с использованием программного продукта Statistica 6.1. Соответствие распределения количественных признаков закону нормального распределения оценивали с помощью теста Колмогорова—Смирнова. Сравнение двух независимых выборок по количественному признаку производили с помощью теста Манна—Уитни, множественные сравнения — с использованием теста Краскелла—Уоллиса. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Количественные данные в табличном материале представлены в формате: медиана (Me) и 1-й, 3-й квартили (Q1, Q3) [17].

#### Результаты и обсуждение.

Во всех группах экспериментальных животных определялись однотипные изменения морфометрических показателей тканевых структур, окружающих имплант, и в жизненно важных органах.

Показатели диаметра фолликулов и периартериальной зоны селезенки статистически значимо не отличались во всех группах наблюдения ( $p > 0,05$ ). При этом следует отметить, что в 3-й группе экспериментальных животных указанные показатели сохранялись на более высоком уровне.

В месте внедрения импланта у животных всех групп наблюдения определялась грубоволокнистая соединительная ткань. Воспалительная реакция отсутствовала.

Морфологическая характеристика печени, сердца, легких и почек у всех лабораторных животных независимо от групп и сроков вывода из эксперимента не имела признаков воспалительно-дистрофического процесса.

Таким образом, установлена однотипность локальных тканевых реакций во всех группах животных при менее выраженном грануляционно-рубцовом процессе в случае имплантации Ф-4PM20 с алмазоподобным покрытием толщиной 5 нм, содержащим распределенные наноразмерные частицы серебра. Активизации иммунной системы на введение импланта по статистически значимым показателям увеличения лимфоидных фолликулов селезенки не установлено ни в одной группе животных.

#### Выводы.

1. Морфологические особенности течения тканевых реакций на внедрение имплантов из радиационно-модифицированного фторопласта марки Ф-4PM20 с алмазоподобным покрытием толщиной 5 нм и алмазоподобным покрытием, содержащим наноразмерные частицы серебра, однотипны и характеризуются формированием грануляционной ткани с последующим образованием фиброзной ткани на 60-е сутки эксперимента.

2. Проведенное экспериментальное исследование показывает перспективность использования в микроотохирургии объемной и поверхностной модификации фторопласта Ф-4, обеспечивающей высокую биосовместимость, стабильность его формы и звукопроводимость без существенного изменения размеров и массы протезов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Shea J., Sanabria F., Smyth G. Teflon piston operation for otosclerosis // Arch Otolaryngol. – 1962. - №76. – P. 516—521.
- Немец Е.А., Полухина О.С., Егорова В.А., Кузнецов А.В., Василец В.Н., Севастьянов В.И. Модифицирование полимерных биоматериалов вакуумным ультрафиолетовым излучением // Вестн.трансплантол и искусств органов. – 2002. - №3. – С. 116.
- Родугин К.Б., Овчинников Ю.М. Адгезивный средний отит. – М.: Медицина, 1972.
- Никитина В.Ф. Применение аутохряща ушной раковины при операциях по поводу тугоухости, обусловленной отосклерозом // Веста оторинолар. – 2000. - №5. – P. 35—38.
- Косяков С.Я., Пахилина Е.В., Федосеев В.И. Отдаленные результаты поршневой стапедопластики с применением тефлоновых и титановых протезов // Кремлевская медицина. Клинич. вестн. – 2008. - №1. – С. 19—21.
- Мельников М.Н. Оценка эффективности применения имплантов при стапедопластике // Веста оторинолар. – 2007. - №6. – С. 40-43.
- Севастьянов В.И. Биосовместимость. – М.: ИЦ ВНИИ геосистем. - 1999.
- Хенч Л., Джонс Д. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. – М.: Техносфера, 2007.
- Алехин А.П. и др. Синтез биосовместимых поверхностей методами нанотехнологии // Рос нанотехнол. – 2010. - №9/10. – P. 128—136.
- Kim J.H., Shin J.H., Shin D.H., Moon M. W., Park K, Kim T.H., Shin K.M., Won Y.H., Han D.K., Lee K.R. Comparison of diamond-like carbon-coated nitinol stents with or without polyethylene glycol grafting and uncoated nitinol stents in a canine iliac artery model. – 2011. - №84- 999. – P. 210—215.
- Lorenz C., Hoffmann A., Gross G., Windhagen H., Dellinger P., Mohwald K., Dempwolf W., Menzel H. Coating of titanium implant materials with

- thin polymeric films for binding the signaling protein BMP2 // *Macromol Biosci.* – 2011. - №11(2). - P. 234—244.
- 12 Пат. DE №3211211 A61F2/18; A61L27/30, опубл. 1983.
- 13 Раздорский В. В. Оценка биосовместимости имплантатов из никелида титана в эксперименте на животных // *Стоматология.* – 2008. - №6. – С. 9-12.
- 14 Бейдер Э.Я., Донской А.А., Железина Г.Ф. Опыт применения фторполимерных материалов в авиационной технике // *Рос хим журн.* – 2008. - №52. - №3. – С. 30—44.
- 15 Конова Е.М., Хатилов С.А. Ползучесть радиационно-модифицированного фторопласта-4. Тезисы докл. МНТК «Полимерные композиты и трибология (Поликомтриб-2007)». - Гомель, 16—19 июля 2007. – 146 с.
- 16 Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные: их разведение, содержание и использование в эксперименте. - Киев: Госмедиздат УССР, 1962.
- 17 Боровиков В. *Statistica*. Искусство анализа данных на компьютере: для профессионалов. – СПб.: Питер, 2003.

**В.П.СИТНИКОВ, С.Ф. ҚҰДАЙБЕРГЕНОВА, Б.И. НҰҒМАНОВ, С.В.ШИЛЬКО, ЭЛЬ-РЕФАЙ ХУСАМ, Э.А.НАДЫРОВ**  
**ҚҰЛАҚ ХИРУРГИЯСЫНДАҒЫ АЛМАЗТӘРІЗДЕС НАНОҚАБАТЫМЕН МОДИФИКАЦИЯЛАНҒАН ФТОРОПЛАСТ НЕГІЗІНДЕ**  
**ПРОТЕЗДЕРДІҢ БИОСӘЙКЕСТІЛІГІ (ТӘЖІРИБЕЛІК ЗЕРТТЕУ)**

**Түйін:** Мақалада тәжірибелік жануарларға жасалған тіндік реакциялардың жалпы және жергілікті ерекшеліктері көрсетілген (зерттелуге 3 топқа бөлінген 150 егеуқұйрық алынған). Үрдіс алмазтәріздес наноқабатымен модификацияланған фторопластқа және алмазтәріздес күміс бөлшектері бар протезге анықталынды. Импланттың екі түріне де тіндік реакциялардың морфологиялық ерекшеліктері бірдей екені, тәжірибенің 60-тәулігіне грануляциялық тіннің пайла болуы, ал кейін фиброзды тінге айналғаны анықталды; микрохирургияда фторопласт Ф -4 көлемді және беткейлі модификациясын қолданудың болашағы бар екені дәлелденді, ал ол өз кезегінде жоғарғы биосәйкестілікті, оның пішінінің тұрақтылығын және дыбыс өткізу қабілетінің протез массасының және көлемінің аса өзгермеуімен көрінеді.

**Түйінді сөздер:** құлақ хирургиясы, импланттар, биосәйкестілік, радиациялық-модификациялық фторопласт, алмазтәрізді қабат, күмістің нанобөлшектері.

**V.P. SITNIKOV, S.F. KUDAIBERGENOVA, B.I. NUGMANOV, S. SHIL'KO, EL-REFAI HOOSAM, E.A. NADYROV**  
**BIOCOMPATIBILITY OF PROSTHESES -BASED PROSTHESES WITH A DIAMOND-LIKE CARBON NANOCOATING IN**  
**EAR SURGERY (AN EXPERIMENTAL STUDY)**

**Resume:** The objective of the present study was to elucidate general and local characteristics of the tissue reactions to the implantation of radiation-modified polytetrafluoroethylene (PTFE)-based fluoroplast F-4PM20 with a diamond-like carbon (DLC) nanocoating or with the diamond-like carbon coating containing the dispersed nano-sized silver particles to the experimental animals (rats). A total of 150 inbred white rats were included into the experiment; they were divided into 3 groups comprised of 50 animals each. The rats in group 1 were implanted with the 5 nm thick strips of fluoroplast F-4PM20 having the diamond-like carbon nanocoating. The animals of group 2 were implanted with the same material containing nanoparticles of chemically pure silver dispersed in the coating, those in group 3 (controls) were implanted with the fluoroplast F-4PM20 without a coating. The animals were sacrificed on days 7, 21, 30, and 60 days after the onset of the experiment. The tissues surrounding the implant as well as heart, lung, spleen, liver, and kidney tissues were taken for the histological study. The local reactions of different tissues were found to be uniform even though there was an apparent tendency toward the less pronounced granulation and scarification processes in the animals implanted with the diamond-like carbon coating containing the dispersed nano-sized silver particles. In none of the groups, the animals exhibited statistically significant lymphoid tissue hyperplasia in the spleen which suggested the activation of the immune system in response to implantation. It is concluded that the PTFE-based fluoroplast F-4PM20 implants with the 5 nm thick DLC coating and a similar coating containing the dispersed nano-sized silver particles can be applied for middle ear reconstructive surgery, being a histologically compatible material that does not cause an inflammatory degenerative response of the tissues.

**Keywords:** middle ear reconstructive surgery, implants, biocompatibility, radiation-modified fluoroplast, diamond-like carbon nanocoating, silver nanoparticles.