

В. В. Россихин, А. И. Ильинский, Н. Ф. Клещев



БИОМАТЕРИАЛОВЕДЕНИЕ



Учебное пособие

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
«Харьковский политехнический институт»

В. В. Россихин, А. И. Ильинский, Н. Ф. Клещев

БИОМАТЕРИАЛОВЕДЕНИЕ

Учебное пособие

для студентов биотехнологического направления
в том числе иностранных

Утверждено
редакционно-издательским
советом университета,
протокол № 1 от 24.06.2010 г.

Харьков НТУ «ХПИ» 2011

ББК 52.5я7
Р74
УДК 616-089.843(075)

Рецензенты:

А. И. Осецкий, д-р физ.-мат. наук, проф., зам. директора по научной работе
ЗАО «Институт криогенных технологий»;

Ю. Л. Волянский, д-р мед. наук, проф., директор Государственного
предприятия «Институт микробиологии и иммунологии
им. Мечникова И. И.»

Посібник включає необхідні при вивченні біоматеріалознавства відомості про застосування штучних матеріалів як медичних імплантатів у різних клінічних сферах застосування, включаючи штучні органи та інжиніринг тканин.

Призначено для студентів біотехнологічного напрямку підготовки.

Россихин, В. В. и др.

Р74: Биоматериаловедение : учеб. пособие [для студ. биотехнол. направл., в т. ч. иностранных] / В. В. Россихин, А. И. Ильинский, Н. Ф. Клещев. – Харьков : НТУ «ХПИ», 2011.– 280 с. – На рус. яз.

ISBN 978-966-593-889-7

Пособие включает необходимые при изучении биоматериаловедения сведения о применении искусственных материалов в качестве медицинских имплантатов в различных клинических сферах применения, включая искусственные органы и инжиниринг тканей.

Предназначено для студентов биотехнологического направления подготовки.

Ил. 53. Табл. 15. Библиогр.: 61 назв.

ББК 52.5я7
УДК 616-089.843(075)

© В. В. Россихин, А. И. Ильинский,
Н. Ф. Клещев, 2011

ISBN 978-966-593-889-7

ВВЕДЕНИЕ

С 60-х гг. XX века значительно расширилось использование биомедицинских материалов для восстановления, замены или укрепления пораженных болезнью, поврежденных или изношенных частей организма. В настоящее время используется более 40 различных материалов для замены более чем 40 различных частей тела. Количество имплантируемых устройств в мире составляет от 4 до 5 млн в год. Миллионы пациентов с радостью почувствовали ослабление боли, повышение функциональности и улучшение качества жизни благодаря успеху биомедицинских материалов, а также изготовленных из них имплантатов и устройств. Искусственные органы используются в повседневной практике для продления и сохранения жизни многих тысяч пациентов в тех случаях, когда трансплантация органов невозможна. Достижения, произошедшие в биологии и в области биомедицинских материалов, нанотехнологии в биоматериаловедении, в настоящее время делают возможным выращивать живые конструкторы вне организма и использовать их в качестве инжиниринговых тканей для регенерации или замены пораженных или поврежденных тканей.

Цель настоящего пособия заключается в том, чтобы предоставить короткое обозрение применения искусственных материалов в качестве медицинских имплантатов в различных клинических сферах применения, включая искусственные органы и инжиниринг тканей.

В части I обобщенно рассматриваются металлы, керамика, полимеры и биоккомпозиты, применяемые для медицинских целей; приводится обзор клеток и типов тканей и их иерархических структур, влияющих на межповерхностное поведение материалов в организме, а также обобщенно анализируются механизмы заживления ран и воспалительная реакция тканей на имплантаты.

В части II делается упор на клинические потребности и концепции восстановления, замены костей и суставов, сердечно-сосудистой системы и других физиологических систем, связанных с мягкими соединительными тканями. В силу значения биомеханики и качества скелетных тканей для долгосрочного успеха ортопедических имплантатов анализируются структура и биомеханические свойства кости, хряща, связок, сухожилий и физиологические механизмы регенерации; дается описание структуры и функции сердца и артериальной системы и их режимов отказа; обсуждается применение полимеров и гидрогелей в качестве материалов для имплантатов.

В части III даются описание материалов и методов, используемых для регенерации костей, сухожилий и связок, замены суставов; принципы инжиниринга искусственных органов, транспорта масс в искусственных органах; описание искусственных систем обмена для замены органов и системы сердечно-сосудистой стимуляции.

Часть IV знакомит читателя с новой, недавно возникшей областью инжиниринга тканей, типами каркасов, которые могут использоваться в качестве шаблонов для выращивания тканей, методами, используемыми для выращивания клеток и тканей вне организма и методами анализа и оптимизации поведения клетки для обеспечения роста ткани. Также дается описание основных сфер применения технологий инжиниринга тканей для регенерации частей организма и клинических успехов.

В последней V части книги рассматривается множество вопросов общественного значения, касающихся разработки, коммерциализации и клинического использования имплантатов и трансплантатов. Обеспечение воспроизводимости свойств и долгосрочной клинической эффективности требует определения характеристики материалов и программы контроля качества. Все медицинские устройства должны соответствовать международным стандартам и удовлетворять нормативным требованиям. В этой части описаны многие этапы и потенциальные барьеры, препятствующие передаче новой технологии биомедицинских материалов из области лабораторного открытия в область коммерческого и клинического применения, рассматриваются этические принципы (вместе с примерами этических проблем), регулирующие применение биомедицинских устройств, имплантатов и трансплантатов.

Часть I. ПОНЯТИЕ О ЖИВЫХ И НЕЖИВЫХ МАТЕРИАЛАХ

1. Металлы

Металлические материалы – это неорганические вещества, как правило, сочетания металлических элементов (например, железа, титана, алюминия, золота), которые могут также содержать небольшие количества неметаллических элементов (например, углерода, азота и кислорода). Металлы редко используются в виде чистого элемента, а смешиваются с другими элементами и образуют сплавы. Это обычно необходимо для получения требуемых свойств материала. Например, железо в сплаве с никелем и хромом образует нержавеющую сталь, а цинк в сплаве с медью образует латунь.

Три фактора определяют выбор металлов и сплавов в качестве биоматериалов:

- физические и механические свойства;
- старение материала;
- биосовместимость.

Микроструктура металлического материала, его свойства и применяемые маршруты обработки очень тесно взаимосвязаны. Необходимо познакомиться с некоторыми общими металлургическими принципами, объясняющими механизмы, лежащие в основе этих факторов. Эти принципы могут применяться по отношению к широкой номенклатуре различных металлических систем, однако главный акцент будет сделан на металлы, свойства и процессы, актуальные для биомедицинских случаев применения.

Как правило, металлические материалы используются для ортопедии, где существенной является их высокая прочность, во внутренних электрических устройствах, в ортодонтии и в искусственных органах. В настоящее время среди наиболее важных прочных биометаллов можно назвать нержавеющие стали, сплавы кобальта, а также титан и его сплавы. Нитинол (металл, обладающий памятью формы), также начинает находить применение вследствие своих необычных свойств, о чем будет сказано ниже. Небольшие количества серебра и благородных металлов, в частности таких, как платина и золото, также применяются в биомедицинских целях благодаря своей химической инертности.

1.1. Металлическая связь

Все атомы состоят из небольшого ядра, включающего нейтроны и протоны, окруженные вращающимися по своим орбитам электронами. Для описания различных свойств всего материала могут использоваться различные модели атома. Одна из моделей строения металла представляет собой повторяющуюся структуру металлических ионов, окруженную океаном или облаком электронов. Эти электроны не связаны с конкретными ионами и свободно перемещаются внутри структуры. Именно благодаря этим свободным электронам металлы являются хорошими проводниками теплоты и электричества, непрозрачными для видимого света, и имеют характерный блеск полированной металлической поверхности. И наоборот, многие механические свойства металлов можно лучше понять, если считать, что атомы ведут себя как твердые сферы. Эти сферы могут притягиваться и образовывать связи. Связи не являются направленными или имеют очень слабое направление, и в результате этого металлы имеют кристаллическую структуру, внутри которой атомы располагаются в виде относительно плотной, регулярной, повторяющейся схемы. Атомы различных металлов располагаются в различных кристаллических структурах. Среди примеров можно назвать алюминий, у которого атомы расположены в плотно упакованной кубической структуре, и титан, в котором атомы расположены в шестигранной плотно упакованной структуре. При комнатной температуре железо имеет третью, самую распространенную кристаллическую структуру в металлах, а именно объемно-центрированную кубическую структуру.

Многие физические и механические свойства определяются прочностью металлических связей и расположением атомов в кристаллической решетке. Например, когда металлический материал плавится, атомы должны приобрести достаточную энергию для того, чтобы свободно оторваться от кристаллической решетки. Если связи являются многочисленными и прочными, точка плавления будет высокой. Другое физическое свойство, определяемое кристаллической структурой – это плотность. Плотность металла – это его масса, поделенная на занимаемый ею объем. Масса каждого атома является фиксированной для любого конкретного элемента, а число атомов в фиксированном объеме определяется кристаллической структурой. Кристаллическая структура также определяет, как атомы могут взаимодействовать друг с другом при деформации металла. Если атомы с трудом перемещаются

относительно друг друга, то металл ломается и будет хрупким; если атомы перемещаются легко, то металл может деформироваться и является ковким.

1.2. Микроструктура

Металлы редко используются как монокристаллы, чаще они являются поликристаллическими и могут также быть смесями двух или более различных фаз. Каждая фаза имеет физическое и химическое отличие. Она может иметь другую кристаллическую структуру или другой состав. Совокупность кристаллов (или зерен) и различных фаз образуют микроструктуру материала. Микроструктуру часто можно легко наблюдать при помощи оптического микроскопа. Таким образом, могут наблюдаться особенности размером до 1 мкм, что эквивалентно увеличению 2000х. Одна конкретная фаза, или граница между фазами, обычно выделяется химическим окрашиванием или растворением (травлением). Особенности меньшего размера могут наблюдаться с помощью электронных микроскопов. Сканирующие электронные микроскопы обеспечивают увеличение до 40000х с большой глубиной поля, идеальной для наблюдения поверхностей излома. Можно увидеть более подробную детализацию с помощью просвечивающего электронного микроскопа со степенями увеличения до 100000х, однако эти изображения должны сниматься через тонкую фольгу образца.

Микроструктура любого материала имеет большое значение, поскольку она воздействует на многие механические и некоторые физические свойства. Например, при комнатной температуре размер зерна металлического материала оказывает большое влияние на предел текучести ($\sigma_{\text{текуч.}}$), который связан с остаточной (пластической) деформацией. Это явление может быть описано уравнением Холла – Печа:

$$\sigma_{\text{текуч.}} = \sigma_0 + \frac{K}{\sqrt{d}},$$

где d – средний диаметр зерна;

σ_0 и K – константы материала.

Размер зерна может контролироваться посредством условий обработки (скорости кристаллизации, управляемой холодной деформации, термической обработки). Изменение химического состава и других условий обработки может также иметь значительное влияние на микроструктуру и, следовательно, на свойства выпускаемых материалов.

1.3. Механические свойства

Когда к материалу приложена сила, в нем возникает противодействующая сила. Эта противодействующая сила измеряется как сила на единицу площади и создает *напряжение* в материале. Напряжение измеряется в единицах силы на площадь или в паскалях в системе СИ (Па). Напряжение вызывает деформацию материала. Отношение деформации к первоначальному размеру – это *относительное удлинение*, измеряемое в процентах. Если металлический материал деформируется посредством приложения растягивающего усилия, в направлении силы возникает удлинение. *Относительное удлинение (деформация)* – это отношение удлинения к первоначальному размеру образца. Первоначально, когда большинство материалов подвергается растяжению, между напряжением и относительным удлинением (деформацией) существует линейное соотношение. Наклон графика напряжение – относительное удлинение называется *модулем упругости* или *модулем Юнга*, который является свойством материала. Если во время этого этапа деформации напряжение снимается, материал мгновенно возвращается к своим первоначальным размерам. Это обратимое поведение называется *упругой деформацией*.

Многие материалы (например, керамика и стекло) разрушаются сразу же после упругой деформации. Однако металлам присуща вторая фаза деформации, которая называется *пластической деформацией*. В этой точке наклон графика напряжение – относительное удлинение изменяется, и напряжение в этой точке называется *пределом текучести*. Эта пластическая деформация является остаточной, и, если бы с металла сняли нагрузку, он бы сохранил удлинение, которое было придано ему во время пластической деформации.

В конце концов, по мере того как будет продолжаться деформация, произойдет разрушение металла. Максимальное растягивающее напряжение, которое может быть приложено к материалу до его разрушения, называется *прочностью на растяжение* этого материала. Обычно металл к этому моменту уже так сильно деформирован, что уже не выполняет свою функцию, поэтому при подборе металлов для конкретного случая применения обычно имеет значение именно предел текучести, а не прочность на растяжение. Существуют другие важные свойства, которые можно прочесть на этом графике зависимости напряжения от относительного удлинения. Этими свойствами является *удлинение* или *пластичность металла*. Это мера величины напряжения, которое может выдержать металл до разрушения. Она, как правило, выражается различными способами. Может указываться пластическая де-

формация до отказа или изменение длины в процентах отказавшего образца по сравнению с его первоначальной длиной (в этом случае следует также указать первоначальную длину). Разумные уровни пластичности являются крайне важными для эффективной обработки материала. *Жесткость* – это мера устойчивости материала к распространению трещин. Одним из способов измерения жесткости является измерение площади под графиком зависимости напряжения от деформации. Эта площадь соответствует энергии, которая необходима для разрушения образца. Если количество энергии большое, это означает, что материал трудно поддается разрушению, и о нем говорят, что он жесткий. И наоборот, обнаруживается, что у хрупких материалов величина такой энергии является низкой; такой материал относительно легко ломается, и часто будет выходить из строя, проявляя малозаметные или вообще не обнаруживаемые заранее признаки отказа. Жесткие материалы также более устойчивы к внезапным ударным нагрузкам.

Металлы являются предпочтительным материалом для ортопедии в силу их высокого предела текучести и жесткости (см. рис. 1).



Рисунок 1 – График зависимости напряжения от относительного удлинения ортопедического сплава титана при испытании на растяжение

В организме в ортопедических случаях применения могут возникать пики напряжений, и металл должен выдерживать эти напряжения, не испытывая остаточной деформации или разлома. В идеале мы бы также предпочли материал, обладающий модулем упругости (модулем Юнга), аналогичным модулю упругости кости. Это обеспечило бы наилучшее соединение и минимальное повреждение частей кости в месте присоединения металла, а также исключило эффекты изменения напряжения.

1.4. Усталостные свойства

Зачастую, если материал испытывает какой-либо вид циклической нагрузки, он будет выходить из строя при напряжении, гораздо более низком, чем предел текучести при одном цикле испытаний. Это явление называется *усталостью*.

Существует два вида усталости – многоцикловая и малоцикловая.

Многоцикловая усталость – усталость материала, при которой усталостное повреждение или разрушение происходит в основном при упругом деформировании. *Малоцикловая усталость* – усталость материала, при которой усталостное повреждение или разрушение происходит в основном при упругопластическом деформировании.

Большинство сплавов выходит из строя при уменьшающейся амплитуде циклического напряжения при увеличении числа циклов напряжения. Для этих материалов *усталостная долговечность* определяется как число циклов, которое выдерживает материал при данной амплитуде напряжения. Или же может быть указано *напряжение усталости* – это напряжение, которое выдерживает материал при некоем большом числе циклов (типичным является 10^7 или 10^8 циклов). Алюминий, магний и большинство цветных металлов ведет себя именно так. Для алюминия усталостная прочность, как правило, составляет одну треть прочности на растяжение сплава. Многие виды стали и сплавы титана характеризуются *пределом усталости*. Ниже определенной амплитуды напряжения (предела усталости) сплав обнаруживает фактически неограниченную усталостную долговечность без отказов. Как правило, это соответствует приблизительно половине прочности материала на растяжение.

К сожалению, *усталость является распространенной причиной отказа в металлических компонентах*. Ее часто бывает легко распознать по ха-

рактерным бороздкам на поверхности излома. Это микроскопические деформации, образующиеся при каждом цикле нагрузки. Хотя присутствие таких меток подтверждает, что элемент претерпел усталость, их отсутствие не предотвращает усталостного отказа, поскольку они часто стираются во время последующих циклов нагрузки.

Коррозийная среда (в частности, солевой раствор) может зачастую оказывать серьезное отрицательное воздействие на усталостные свойства металлического материала, и данный фактор представляет собой серьезную проблему подбора материала для биомедицинских случаев применения в силу коррозионного характера физиологических жидкостей организма.

1.5. Твердость и износ

Твердость металла – это его сопротивление локальной пластической деформации, проявляющееся в образовании лунок или царапин и являющееся одним из самых легких способов измерения механических свойств.

Для расчета значения твердости измеряется глубина образовавшейся лунки, полученной от давления на поверхность металла небольшого индентора. Применяются различные шкалы твердости, а индентор выполняется из различных твердых материалов (в частности, из закаленной стали или алмазов), имеющих различные формы (например, в виде сферы или пирамиды).

Кроме измерения сопротивления к образованию лунок или царапин на поверхности металла, значения твердости можно использовать в контроле качества и для оценки других механических свойств, в частности прочности на растяжение сплава.

Твердость металла также влияет на износ, когда имеет место скольжение двух поверхностей относительно друг друга. Износ зависит от присутствия любой смазки, шероховатости скользящих поверхностей, химической среды и нагрузки. Износ является важным не только из-за повреждения, принимаемого компоненту, но также ввиду образования нежелательных продуктов износа.

1.6. Запоминание формы и сверхупругость

Удивительная способность некоторых материалов «запоминать» предыдущую форму была впервые обнаружена в 1950-х гг. у сплава золота с кадмием. Сплав, деформированный при низкой температуре, возвращается к своей первоначальной форме при последующем нагревании до критической температуры. Самые важные сплавы с памятью формы, имеющие практическое значение, это сплавы никеля с титаном (Ni–Ti), которые известны под названием «нитинол». Эти сплавы характеризуются как *явлением запоминания формы*, так и связанным с ним свойством, которое называется *сверхупругостью*. Оба явления полезны для применения в биомедицине.

Сплавы отличаются тем, что в пластически деформированном состоянии восстанавливают свою первоначальную форму сразу же после снятия нагрузки или же после нагрева. Например, если проволоку при высокой температуре закрутить в спираль, а при комнатной температуре выпрямить, то при повторном нагреве проволока снова самопроизвольно закрутится в спираль.

Механизм этого явления связан с так называемым термоупругим мартенситным превращением, на деталях которого мы не останавливаемся. К материалам с таким эффектом относятся сплавы Ni–Ti, Ni–Al, Cu–Al–Ni и др. Как отмечалось выше, наиболее известным сплавом с памятью формы является нитинол (Ni–Ti). Он имеет высокие показатели прочности: предел прочности до 1,1 ГПа; деформация до разрушения – 15 %.

Применение указанных сплавов особенно целесообразно для изготовления имплантатов и устройств в случае необходимости существенного уменьшения размеров и массы конструкций при одновременном сохранении высоких прочностных характеристик. В качестве примера может быть приведена схема работы экстрактора для извлечения камней из мочеочника. Экстрактор, изготовленный из наноструктурного нитинола, вводится в мочеочник в виде проволоки. Восстановление необходимой (заданной заранее) формы в виде петли осуществляется за счет температуры человеческого тела или при слабом нагреве электрическим током.

Важным примером практического применения нитинола является устройство для клипирования кровеносных сосудов, трубчатых структур и мягкоэластичных тканей, предназначенное для остановки кровотечения при лапароскопических операциях.

Явление запоминания формы используется в пластинах для кости, создающих сжимающее усилие на переломе и обеспечивающих более быстрое заживление. Иглы костного мозга (используются для фиксации перелома кости бедра) трудно вставляются, но эта процедура может быть облегчена с помощью формозапоминающего сплава, поскольку нужный размер и форма будут восстанавливаться после нагревания иглы в костном мозге. Проволока из формозапоминающего сплава Ni–Ti также используется в насосе искусственной почки в качестве исполнительного механизма: электрический ток заставляет его нагреваться и создавать усилие, сжимающее насос. Ток выключается, и насос расширяется, а быстрое охлаждение тонкой проволоки заставляет ее превращаться в мартенситную фазу, при которой она легко деформируется пружиной. Проволока из Ni–Ti может выдерживать огромное число циклов.

Механические свойства сплава являются идеальными для механической манипуляции с нецентрированными зубами в ортодонтии. Другие случаи применения в ортодонтии касаются использования формозапоминающего эффекта во внутриальвеолярных лопастных имплантатах для крепления зубов и в кламмерах при креплении частично съемных зубных протезов. Усилие, создаваемое сверхупругой проволокой, деформация, достигаемая формозапоминающим эффектом, и температуры фазового превращения могут контролироваться посредством используемых способов обработки и создания необходимых микроструктур.

1.7. Коррозия

Коррозия металлов в организме может привести к поломке элемента или невыполнению его функции, а также ведет к созданию вредных продуктов коррозии. Все металлы, за исключением благородных (золото (Au), платина (Pt)), склонны к коррозии. Коррозия металлов происходит в результате электрохимического воздействия, когда электроны переходят от одного элемента к другому. Корродирующий металл теряет электроны и становится ионом металла, т.е. окисляется (даже если кислород не участвует в процессе). Металл, в котором происходит реакция окисления, называется анодом.

Воздействия физиологических жидкостей организма на металлы очень похожи на воздействие теплой аэрированной морской воды. Ионы металла могут раствориться и диффундировать в жидкости, а электроны расходуются

либо в реакции с растворенным в воде кислородом и образуют ионы гидроксила (ОН), либо в реакции с положительно заряженными ионами металла.

Хотя процесс коррозии всегда носит электрохимический характер, может возникнуть несколько различных механизмов, и эти типы коррозии можно легко узнать. Некоторые из этих механизмов включают гальваническую коррозию, щелевую коррозию, питтинговую (язвенную) коррозию и коррозию под напряжением. Различные типы коррозии могут быть предотвращены различными способами, хотя, как правило, эффективным является предотвращение контакта между металлом и коррозионной средой с помощью тщательно подобранного покрытия. Для определения других методов защиты от коррозии необходимо представлять себе, как возникают различные виды коррозии.

Гальваническая коррозия – это специфический тип коррозии, возникающий, когда два различных металла электрически соединяются в коррозионной среде, например два металла, находящиеся в соприкосновении в жидком электролите, в частности, в физиологической жидкости. Скорость коррозии одного из двух металлов увеличивается, а скорость коррозии другого металла уменьшается по сравнению с тем, когда они не находятся в электрическом контакте друг с другом. Металл, корродирующий быстрее, становится анодом, а другой – катодом, и между ними создается электрический потенциал (точно по такому же принципу работают аккумуляторные батареи с сухими элементами). Гальваническую коррозию можно предотвратить путем электрической изоляции металлов друг от друга либо путем тщательного подбора сочетаний металлов, которые не оказывают сильного воздействия на скорость коррозии.

Щелевая коррозия – это высоколокализованная форма коррозии, которая возникает внутри щелей и экранированных зон, как правило, на стыках или под прокладками. Остальные поверхности не обнаруживают повреждений или обнаруживают очень незначительные повреждения. Щель обычно имеет размер несколько сотых долей миллиметра. Такой промежуток является достаточно широким для того, чтобы обеспечить поступление жидкости, но с другой стороны достаточно узким для того, чтобы сохранить зону застоя. Нержавеющие виды стали в особенности подвержены этому типу коррозии, которая может быть сокращена благодаря зоне застоя. Первоначально коррозия происходит равномерно по всей поверхности элемента. Спустя короткое время кислород внутри щели истощается из-за застоя жидкости. В этой зоне не происходит восстановление кислорода до ионов гидроксила, хотя растворение металла продолжается. Ионы металла создают избыточный

положительный заряд в растворе. Это фактор уравнивается в результате миграции ионов хлорида в щель. При этом концентрация хлорида металла внутри щели увеличивается. Соли металла подвергаются гидролизу в воде, образуя нерастворимый осаждающийся гидроксид металла и свободную кислоту в соответствии со следующей реакцией:



И ионы хлорида, и ионы водорода ускоряют темпы растворения большинства металлов и сплавов, и процесс становится самокаталитическим. Тщательное конструирование, направленное на то, чтобы избежать образования щелей, может предотвратить этот тип коррозии.

Питтинг возникает в результате действия факторов, очень похожих на факторы образования щелевой коррозии, и может быть установлен, когда узкие ямки растут, обычно вглубь горизонтальной поверхности. Ямки могут возникнуть в результате царапины или дефекта материала или в силу произвольных колебаний концентрации коррозионной жидкости. Нержавеющие виды стали подвержены питтингу, однако легирование может уменьшить возникновение питтинга. Например, для предотвращения питтинга к нержавеющей стали можно добавить 2 % Мо. Известно, что некоторые материалы не подвергаются питтингу в специфических средах, например титан в целом устойчив к этому типу коррозии.

Растрескивание в результате *коррозии под напряжением* возникает как следствие одновременного действия напряжения и коррозионной среды. Необходимы оба из этих условий; некоторые материалы могут вообще почти не корродировать в коррозионной среде, если одновременно не присутствует напряжение. Образуются небольшие трещины, распространяющиеся перпендикулярно действующему напряжению и в конечном счете приводящие к выходу элемента из строя. Напряжение необязательно должно быть внешним, приложенным извне, и может быть вызвано условиями обработки или присутствием вторых фаз в сплаве. Большинство сплавов подвержено этому типу коррозии в специфической среде, например, нержавеющие виды стали корродируют под напряжением в растворах солей хлористоводородной кислоты, а сплавы титана корродируют под напряжением в морской воде. К счастью, число различных видов среды, в которой будет растрескиваться конкретный сплав, невелико. Лучший способ уменьшения или предотвращения этого вида коррозии заключается в том, чтобы уменьшить напряжение, которому подвергается металл.

1.8. Воздействие обработки на структуру, свойства и надежность

Взаимозависимость состава, обработки, микроструктуры и свойств нельзя переоценить. Микроструктура и состав материала определяют многие его физические и химические свойства и все его механические свойства. Микроструктура определяется условиями обработки и составом. Однако эволюция микроструктуры во время обработки может ограничивать количество выполняемых операций. Материал может стать слишком твердым или хрупким для того, чтобы обработка продолжалась. Или, наоборот, в обрабатываемой детали могут образоваться структуры, приводящие к плохим свойствам готового элемента.

Технологии обработки включают условия кристаллизации, последующую деформацию и термическую обработку. Уже упоминалось, как размер зерна может влиять на предел текучести в металлических сплавах (уравнение Холла–Печа). Зерна могут также выстраиваться в определенных кристаллографических направлениях во время обработки, что будет влиять на свойства материала. Деформация создает дефекты в металлических кристаллических структурах, которые, как правило, улучшают механические свойства, такие как предел текучести, но оказывают негативное воздействие на такие свойства, как пластичность. Термическая обработка металлов и сплавов может увеличить размер зерна, ликвидировать дефекты или привести к растворению частиц второй фазы или их выделению в материале. Контроль скорости охлаждения материала может приводить к его превращению в совершенно новые фазы с другими свойствами. В материале могут появляться такие дефекты, как царапины или поры, которые могут негативно влиять на его свойства.

1.9. Клинические требования

Для того чтобы материал использовался в качестве биоматериала, необходимо, чтобы он обладал адекватными физическими и механическими свойствами для выполнения своей функции. Он не должен сильно корродировать в организме, и он должен иметь необходимый срок службы, определяемый либо числом циклов, которые элемент должен выстоять, либо временем, которое элемент должен выдержать внутри тела человека. С учетом этого часто выбирают металлы с сочетанием прочности и жесткости (нержавеющая сталь, титановые сплавы, сплавы кобальта – все используется в ортопедических сферах применения) благодаря их электрической проводимости и инертности (золото, платина) или новым свойствам, таким как память формы и сверхупругость (Ni–Ti, который используется в ортодонтии, ортопедии и миниатюрных устройствах).

дических сферах применения) благодаря их электрической проводимости и инертности (золото, платина) или новым свойствам, таким как память формы и сверхупругость (Ni–Ti, который используется в ортодонтии, ортопедии и миниатюрных устройствах).

2. Керамика

Керамика – это твердые материалы, состоящие из неорганических, неметаллических веществ. Это определение охватывает традиционные виды керамики, в частности такие, как фарфор, материал гончарных изделий и цементы, а также современные передовые виды керамики, а именно: ферроэлектрики, неметаллические магнитные материалы, биокерамику и конструкционные окисные и неокисные материалы. Керамика существует и в виде кристаллических, и в виде некристаллических (аморфных) соединений. Виды стекла (в том числе и частично кристаллизованные) известны под названием «стеклокерамика» и поэтому являются подклассами керамики.

Общей характеристикой всех керамических материалов является то, что во время своего изготовления или применения они подвергаются высокотемпературной обработке (высокая температура обычно означает температуру выше 500 °C). Как правило, керамика – это окисел металла, борид, карбид или нитрид, смесь или соединение таких материалов, т.е. она включает анионы, играющие важную роль в их атомной структуре и свойствах.

Главными характеристиками керамики являются:

- ✓ высокая твердость;
- ✓ тепло- и электроизолирующие свойства;
- ✓ устойчивость к нагреву и коррозии;
- ✓ хрупкость и ломкость без деформации.

Керамика, используемая для имплантатов и в регенерации пораженных заболеванием или поврежденных частей организма, называется *биокерамикой*. Биокерамика главным образом используется для регенерации твердых тканей, таких как кости, суставы или зубы. Для применения в организме было испытано множество керамических соединений; однако всего лишь небольшое число этих материалов нашло клиническое применение в организме человека. Вот примеры биокерамики: оксид алюминия, двуокись циркония, оксид титана, трикальцийфосфат, гидроксилпатит, алюминаты

кальция, биоактивные стекла и стеклокерамика. В зависимости от типа реакции в организме биокерамика классифицируется следующим образом:

- биоинертная;
- биоактивная;
- растворяющаяся в организме (резорбирующая).

На выбор керамики и стекла в качестве биоматериалов оказывают влияние три фактора:

- ✓ физические и механические свойства;
- ✓ распад материала в организме;
- ✓ биосовместимость.

Микроструктура керамического материала, его свойства и применяемые виды обработки очень тесно взаимосвязаны между собой. В данной главе читатель познакомится с общими принципами, объясняющими некоторые механизмы, лежащие в основе этих факторов. Указанные принципы могут быть применены к широкому спектру разнообразных видов керамики и стекла, однако основной упор будет сделан на керамику, обладающую необходимыми свойствами и используемую в процессах, относящихся к биомедицинским случаям применения.

2.1. Атомные связи и атомные структуры в керамике

Поликристаллические керамические материалы – это твердые вещества, в которых атомы или ионы расположены регулярными массивами. В стекле (аморфных материалах) регулярность (упорядоченность) является лишь близкодействующей. Тип атомных связей и атомных структур оказывает влияние на свойства материалов. Атомные связи в керамике являются главным образом ионными или ковалентными и обычно представляют собой гибрид этих связей. Тенденция к образованию ионных связей усиливается с увеличением различия в электроотрицательности атомов. В ионных связях происходит переход электронов между атомами вещества. Положительно заряженные ионы уравнивают отрицательно заряженные ионы, поэтому молекулы вещества электрически нейтральны. Одним из таких примеров является NaCl, где заряд ионов Na^+ уравнивает заряд ионов Cl⁻. В ковалентных связях электроны являются общими для атомов. Кристаллическая структура определяет, каким образом атомы могут перемещаться относительно друг друга при деформации материала. Если такое перемещение затруднено, то вероятно, что материал разрушится и будет хрупким; если атомы легко скользят друг относительно друга, материал может деформировать-

ся, т.е. является пластичным. Поэтому характерная хрупкость и высокая прочность керамики объясняются ионными и ковалентными типами связи: они создают очень высокое внутреннее сопротивление движению дислокации в решетке, а отсюда и пластической деформации. Поэтому в отличие от металлов, концентрация напряжения на конце трещины в керамике не может быть облегчена пластической деформацией, и материал, будучи хрупким, разрушается.

Пространственное расположение отдельных атомов в керамике (кристаллическая структура) зависит от типа связей, относительных размеров атомов и равновесия электростатических зарядов. Большинство кристаллических структур керамики представляют собой варианты гранцентрированных кубических или гексагональных плотно упакованных структур. Как правило, металлические катионы занимают междоузельное положение в решетке, состоящей из неметаллических ионов.

Наиболее распространенными кристаллическими структурами в керамике являются следующие:

- простые кубические, например CsCl, CsBr, CsI;
- плотно упакованные кубические: это вариант гранцентрированной кубической структуры, например CaO, MgO, FeO, BaO и т.д.;
- плотно упакованные гексагональные, например Al_2O_3 , Fe_2O_3 , Cr_2O_3 и т.д.

Оксид алюминия (Al_2O_3) является самым важным кристаллическим биокерамическим материалом, поскольку он используется при замене суставов. Его гексагональная плотно упакованная кристаллическая структура показана на рис. 2

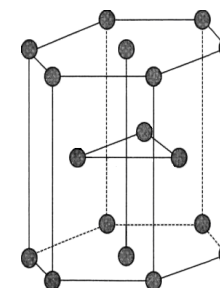


Рисунок 2 – Элементарная ячейка гексагональной плотно упакованной структуры кристаллической решетки (h.c.p.)

Стекло, как подкласс керамических материалов, представляет собой наиболее важную группу некристаллических твердых веществ. *Стекло* – это аморфный материал очень высокой вязкости, который ведет себя как твердое тело. В стекле имеется неупорядоченная атомная структура, характерная для жидкости, т.е. оно не претерпевает превращения в кристаллическое состояние.

Силикатное стекло состоит из сетки тетраэдров (четырёхгранников), включающих четыре больших иона кислорода с ионом кремния в центре (см. рис. 3). Однако каждый кислород является общим для двух тетраэдров, давая общий химический состав SiO_2 . Основная силикатная сетка может включать, в сущности, все атомы периодической системы элементов, в результате чего получается силикатное стекло многочисленных различных составов и свойств.

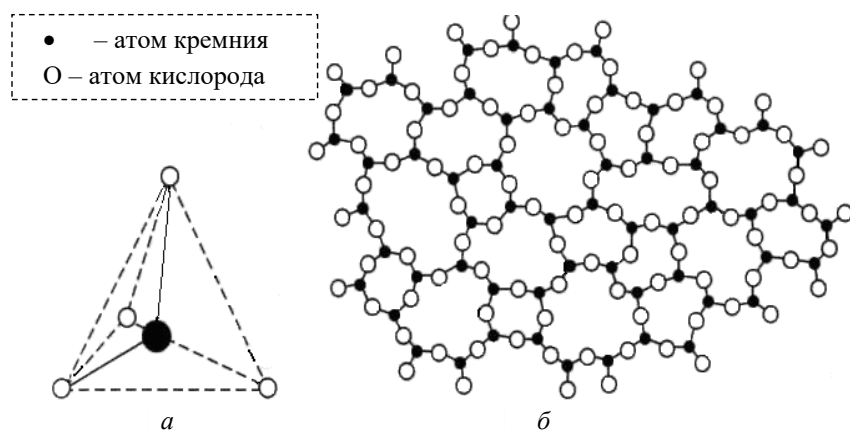


Рисунок 3 – Структура стекла:

a – тетраэдр диоксида кремния;

б – разупорядоченная сетка тетраэдров диоксида кремния

Силикатное стекло является наиболее распространенным и технологически самым важным видом стекла. Одним из основных преимуществ стекла является простота изготовления, которая позволяет использовать такие технологические процессы, как пропитка расплавом и компрессионное формование.

Стеклокерамика представляет собой особый класс керамики. Это поликристаллические материалы, имеющие мелкие керамические кристаллиты (обычно размером меньше 1 мкм) в стеклянной кристаллической решетке. Они производятся посредством управляемой кристаллизации стекла с помощью соответствующей термообработки.

Термическая обработка типов стекла на основе золя-геля и керамики предусматривает значительно более низкие температуры, но обработка расплава требует меньше времени в силу тщательно контролируемой термической обработки, необходимой для создания свободных от трещин видов стекла на основе золя-геля.

2.2. Микроструктура керамики

Керамические материалы редко используются в качестве отдельных кристаллов. Они чаще представляют собой поликристаллические структуры, а также могут быть смесями двух или более различных кристаллических фаз. Иногда также присутствует стеклянная фаза. Все фазы различаются по физическим и химическим свойствам, а также по кристаллической структуре и / или составу. *Расположение кристаллов (зерен) и различных фаз представляет собой микроструктуру материала.* Микроструктура зависит от первоначальной технологии изготовления, используемого сырья, изменений фаз, химических реакций и роста зерна, происходящего во время высокотемпературной обработки. Как правило, керамические микроструктуры состоят из отдельных кристаллов (зерен), разделенных пограничными слоями, и заполненных газом пор.

Наблюдается широкий диапазон размеров зерна, как правило, в пределах 1–1000 мкм. *Пористость* может быть мелкой или грубой, открытой или закрытой. Керамические микроструктуры можно наблюдать после полировки материалов с помощью оптических микроскопов. Одна конкретная фаза (или границы зерен) может быть выделена посредством химического или термического травления. Детали структуры (размером меньше 1 мкм) на полированных участках или поверхностях разлома можно наблюдать с помощью электронных микроскопов.

Микроструктура любого материала является важной, поскольку она воздействует на механические и физические свойства материала. В частности,

очень важными параметрами являются: размер зерна и форма зерна; распределение размеров зерна; характер границ зерна и структура пор.

В отличие от поликристаллических керамических материалов в стекле нет микроструктурных особенностей, которые кажутся однородными под оптическими или электронными микроскопами. А вот микроструктуры стеклокерамических материалов характеризуются дисперсией кристаллов, обычно микронного размера, рассеянных в непрерывной стеклянной кристаллической решетке.

2.3. Механические свойства керамических материалов

Когда к материалу приложена сила, в материале возникает противодействующая сила. Эта противодействующая сила измеряется как сила на единицу площади и создает напряжение в материале. Напряжение вызывает деформацию материала. Соотношение между деформацией и первоначальным размером – это удлинение. Первоначально между напряжением и деформацией существует линейное соотношение (см. рис. 4). Угол наклона графика зависимости напряжения – деформации называется *модулем упругости или модулем Юнга*, который является свойством материала. Если во время первого этапа деформации напряжение снимается, материал мгновенно возвращается к своим первоначальным размерам. Это обратимое поведение называется *упругой деформацией*. Упругие свойства керамики определяют ее механическое поведение и тесно связаны с кристаллической структурой и атомными связями. Константы упругости также в значительной степени зависят от микроструктуры. В частности, пористость имеет значительное влияние на константы упругости, которые уменьшаются с увеличением процента пор. Кроме процентного содержания пор, форма пор и ориентация пор также влияют на упругость керамики и стекла.

Керамика и стекло разрушаются сразу же после того, как испытывают критическую упругую деформацию. Однако, металлы начинают испытывать фазу пластической деформации перед разрушением.

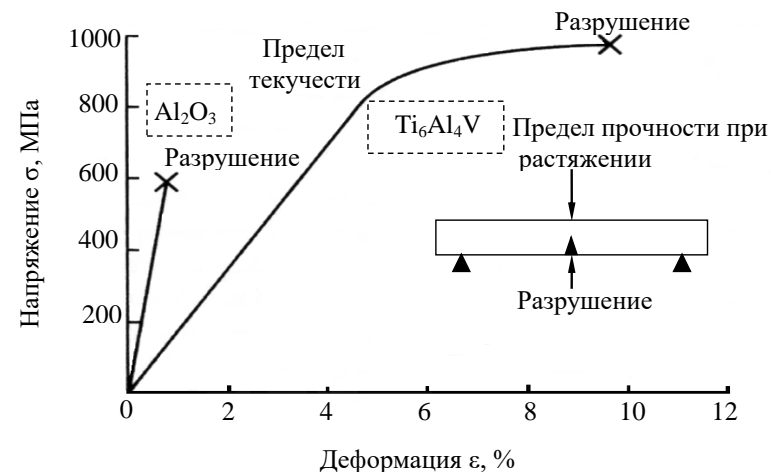


Рисунок 4 – График зависимости напряжения – деформации для алюминиевой керамики по сравнению с металлическим сплавом

Максимальное напряжение при растяжении, при котором происходит разрушение, называется *пределом прочности материала на растяжение*. Обычные значения прочности керамики на один или два порядка меньше теоретических значений, рассчитанных на основе межатомных связей. Это потому, что разлом керамики и стекла обычно происходит посредством распространения трещин или дефектов, существующих в материалах (открытие, сделанное Гриффитом в 1920 г.). Эти трещины характеризуются *явлением концентрации напряжения*, ослабляющей материал. Легкость, с которой листовое стекло может быть «разрезано» после разметки острым алмазным наконечником, является следствием этого эффекта. Концентрация напряжения на конце узкой трещины обратно пропорциональна радиусу кривизны на конце трещины. Таким образом, острые трещины оказывают отрицательное воздействие на предел прочности при растяжении по сравнению с округленными дефектами.

Типичными дефектами в керамике являются следующие:

- ✚ дефекты, вызванные обработкой, в частности такие, как включения, поры, изолированные большие зерна, границы стеклянных зерен и поверхностные трещины, вызванные механической обработкой;

- ✚ дефекты, вызванные конструкцией, в частности такие, как острые углы, отверстия и т.д.;

✚ дефекты, вызванные сервисным обслуживанием, главным образом в силу экологического распада, термических напряжений, ударных нагрузок и износа.

Пористость является одним из наиболее распространенных дефектов в керамике, который также отрицательно сказывается на прочности. Тщательная обработка может исключить многие дефекты или уменьшить размер дефекта. Размер трещины сильно влияет на прочность материала.

Упругость – это мера устойчивости материала к распространению в нем трещин. Величину упругости можно определить по площади под графиком зависимости напряжения от деформации. Эта площадь пропорциональна энергии, которая требуется для разлома образца материала. Для хрупких легкобьющихся материалов, например керамики и стекла, эта энергия мала.

Для повышения упругости хрупких материалов в состав стеклянных и керамических композитов включают частицы или волокна. Керамические композиты также устойчивы к внезапным нагрузкам. Низкая ударная вязкость керамических и стеклянных материалов препятствует широкому использованию их в качестве несущих нагрузку ортопедических конструкций. Однако, биокерамика широко применяется в ортопедии для покрытия несущих металлических имплантатов, а также в костно-мышечных и зубных инженерных конструкциях, которые не подвергаются большим нагрузкам.

Время действия напряжения – очень важная характеристика прочности керамики. При постоянной нагрузке прочность керамики со временем изменяется. *Зависимость прочности от времени нагрузки приводит к докритическому росту трещин*, что часто наблюдается под действием внешних факторов, например воды. При нагрузках ниже определенных значений трещин в материале не образуется. При более высоких значениях напряжений в материале с постоянной скоростью происходит докритический рост трещин, который зависит в основном от диффузии в трещины коррозионных агентов из окружающей среды. В случае биокерамики такими агентами служат физиологические жидкости.

Твердость материала – это мера его устойчивости к деформации в виде зазубрин или царапин. Это одно из самых простых для измерения свойств материала. На поверхности материала делают небольшую насечку, а глубина получившейся царапины служит мерой твердости. При движении двух керамических поверхностей относительно друг друга *износ (усталость)* этих по-

верхностей *зависит от твердости и упругости материала*, а также от шероховатости скользящих поверхностей, состава окружающей среды, нагрузок и наличия какой-либо смазки. Износ приводит как к повреждению поверхностей, так и к появлению нежелательных продуктов износа. В случае биокерамики это может стать причиной отказа конструкции (имплантата) и / или воспалительной реакции со стороны окружающих тканей.

2.4. Обработка керамики

Известно несколько способов получения стеклянных и керамических материалов. *Производство керамических компонентов включает следующие стадии.*

1. Подготовка сырья в виде порошка, жидкой глины или коллоидной суспензии.

2. Формирование заготовки, которая по форме соответствует нужному элементу, но обычно менее прочная. При использовании в качестве сырья порошка, его прессуют. Если используются коллоидные суспензии или глины, то применяют несколько методов, включая штамповку, инжекторное литье, фильтрацию под давлением и осаждение электрофорезом.

3. Для повышения плотности и прочности материала заготовку подвергают тепловой обработке (спеканию). Зачастую используется высокая температура и давление (изостатическое прессование и горячее прессование).

4. После высокотемпературной обработки заготовке придают нужную форму.

При производстве стекла отливки готовят из расплавленного сырья. Однако *некоторые биоматериалы*, например биоактивное стекло, *получают*, как и керамику, *порошковым методом*. В процессе штамповки смеси керамического и стеклянного порошков происходит диффузия атомов поликристаллического керамического материала и вязкого потока аморфного стекла. *Для получения стеклокерамики* используют также *химические методы*, позволяющие добиться высокой молекулярной гомогенности (однородности) и чистоты продукта. *К таким методам относится процесс превращения золя в гель*, который используют для изготовления пористой и пенистой биоактивной стеклокерамики и керамических покрытий. При этом происходит гидролиз кислого оксида кремния с образованием коллоидного раствора (золя) и последующая полимеризация в реакции конденсации с образованием геля.

Гель при нагревании высыхает, и образуется стеклокерамика. Для этого требуется намного меньшая температура, чем для получения стеклокерамики прессованием.

2.5. Влияние способа получения материалов на их микроструктуру и свойства

Большинство физических свойств и все механические свойства материала зависят от его микроструктуры и состава. Микроструктуру материала определяет способ его производства и химический состав. В процессе производства микроструктура материала изменяется, например, при прессовании повышается его плотность. Это может ограничивать возможности технологических операций при получении материала. Другими словами, может получиться рабочая конструкция с нежелательными свойствами, обусловленными микроструктурой материала. На рис. 5 показана сложная взаимосвязь между производством материалов, их микроструктурой и механическими свойствами, а также внешними факторами, например температурой окружающей среды.

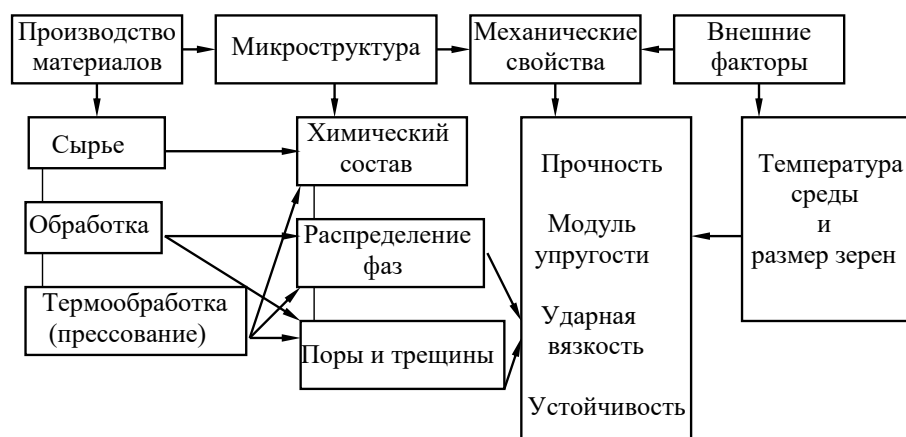


Рисунок 5 – Взаимосвязь между условиями производства, микроструктурой, механическими свойствами керамики и внешними факторами

2.6. Клинические требования

Биокерамика используется для восстановления и реконструкции пораженных болезнью или поврежденных частей опорно-двигательной системы. Выбор конкретного биокерамического материала для данного случая применения будет зависеть от типа требующегося крепления биокерамического материала к ткани. Плотные, непористые, почти инертные керамические материалы, такие как Al_2O_3 и ZrO_2 , прикрепляются в результате роста кости к шероховатостям поверхности путем цементирования устройства к ткани или путем впрессовывания в дефект (*механическая фиксация*). Если эти имплантаты имеют поры с диаметром более 100 мкм, может происходить процесс, обеспечивающий крепление кости к материалу (*биологическая фиксация*). У поверхностно реактивных керамических материалов, в частности таких, как гидроксилapatит и некоторые составы силикатного стекла и стеклокерамики, материалы прикрепляются с помощью химических связей с костью (*биоактивная фиксация*).

Биоактивные керамические материалы также используются в качестве покрытий на металлических имплантатах. Поглощаемые керамические материалы и стекло в общем или в порошковом виде предназначены для поглощения в организме со скоростью, аналогичной скорости образования новой кости. Некоторые биоактивные стеклянные составы, в особенности в системе $SiO_2-CaO-Na_2O-P_2O_5$, также крепятся к мягким тканям. Поэтому биокерамика имеет большой потенциал использования в качестве пористых каркасов для целей инжиниринга тканей.

Для того чтобы керамический материал использовался в качестве биоматериала, он должен иметь соответствующие физические, биологические и механические свойства для выполнения своей функции. Основная проблема, связанная с использованием керамики в организме в качестве постоянных имплантатов, заключается в замене старой, распадающейся кости на материал, который может функционировать в течение остальных лет жизни пациента. Выживаемость биокерамического материала требует формирования стабильного контакта с живой тканью. Если в контакте может возникнуть перемещение, имплантат быстро ослабляется. Ослабление непременно ведет к клиническому отказу в виде разлома имплантата или кости, смежной имплантату. В случае использования инертных биокерамических материалов кость на стыке является очень часто структурно слабой из-за заболевания, локализованной гибели кости или релаксации напряжения, кото-

рое происходит из-за того, что более высокий модуль упругости имплантата препятствует созданию соответствующей нагрузки кости. Крепление и обеспечение связи инертных имплантатов (как металлических, так и керамических) с костью может быть усилено путем использования сконструированных пористых структур или путем использования биоактивных керамических материалов в качестве покрытий (гидроксилапатит или биоактивные виды стекла). *Потенциальное преимущество, обеспечиваемое пористой керамикой*, – это механическая стабильность стыка, который образуется, когда кость врастает в поры. *Недостаток* – это более низкая механическая прочность и хрупкость, связанные с пористыми керамическими имплантатами, применение которых ограничено главным образом сферами, где нагрузок не создается.

В качестве оптимального решения проблем биоматериалов можно рассматривать то, что поглощаемые биокерамические материалы предназначены для постепенного распада и замены природной ткани организма. Однако сложность разработки рассасывающихся керамических материалов возникает из-за существования проблем, связанных с согласованием скорости рассасывания со скоростью замены природной ткани организма и сохранением прочности и стабильности стыков в период распада. Скорость роста ткани у разных пациентов разная и зависит от типа ткани.

Другим подходом к решению проблем стыкового крепления является использование биоактивных материалов. Это материалы, вызывающие конкретную биологическую реакцию на стыке материала, которая обеспечивает формирование связи между тканями и материалом. Как упоминалось выше, гидроксилапатит, некоторые составы силикатного стекла и апатитоволластонитная стеклокерамика являются биоактивными. В сущности, биокерамика, которая является как растворимой, так и биоактивной, представляет собой биоматериалы третьего поколения, которые находят применение в качестве строительных лесов в костном инжиниринге и инжиниринге мягкой ткани. В этих случаях применения биоактивная керамика может быть превращена в пористую (пенообразную) структуру со специально заданным размером поры.

Механические свойства биокерамики являются недостатком при прямом использовании в качестве заменителя кости в сферах применения под нагрузкой. Обычно биокерамика сочетается с полимерами и металлами, эффективно образуя композитные материалы с повышенными механическими свойствами и упругими константами, соответствующими упругим константам кости.

3. Полимеры

Термин «полимер» состоит из двух терминов: «поли» – много и «мер» – единица. Отсюда *полимер* – это молекула, состоящая из множества единиц. Полимеры можно классифицировать на два разных типа:

- термоотверждаемые;
- термопластичные.

Термопластичным полимерам может придаваться форма путем подачи теплоты и давления в расплавленной виде. Этот тип полимера не имеет межмолекулярных связей и, как правило, состоит из линейных полимерных цепей.

Термоотверждаемые полимеры, как правило, полимеризуются в своем окончательном состоянии и не могут быть переформованы путем нагрева. Цепи в этом типе полимера, как правило, имеют ковалентные межмолекулярные связи.

Полимеры можно также классифицировать как:

- аддитивные (полимеры, полученные ступенчатой полимеризацией);
- конденсационные.

Аддитивные полимеры производятся посредством реакций присоединения свободного радикала из ненасыщенных мономеров, содержащих двойные углерод-углеродные связи. Примерами аддитивных полимеров являются полиэтилен и полиметилметакрилат.

Конденсационные полимеры образуются путем совместной реакции двух полимеров, в результате которой выделяется вещество с небольшим молекулярным весом, например, вода. Примерами конденсационных полимеров являются полиамиды и полиэферы. Некоторые конденсационные полимеры могут подвергаться гидролизу в организме и претерпевать распад.

Реакции полимеризации приводят к распределению отрезков цепи и к распределению молярной массы (M_w). Предполагается, что распределение M_w может быть разбито на количество цепей в смеси, каждая из которых имеет определенную длину.

Типичные термопластики состоят из 10 тыс. мономерных звеньев, образуя длинные цепи высокой молярной массы. Полностью растянутые цепи имеют высокое соотношение длины к диаметру. Типичное расстояние от одного конца полимера до другого приблизительно равно $2 \cdot 10^{-6}$ м. Свобода

Факторы, влияющие на степень кристалличности:

- ✓ молярная масса и присутствие переплетений. Кристаллизация включает расплетение и ориентацию цепи. Более высокие молярные массы, как правило, ограничивают диффузию и сокращают степень кристалличности;
- ✓ время и температура или история охлаждения. Выдержка полимера выше его температуры перехода в стекло, но ниже его T_m позволяет увеличить время кристаллизации;
- ✓ ориентация полимерных цепей в процессе обработки способствует кристаллизации.

Степень кристаллизации полимера может быть определена при помощи рентгеновской дифракции, дифференциальной сканирующей калориметрии или измерений плотности.

Полимеры широко используются для медицинских устройств и имплантатов. Первые медицинские устройства были основаны на применении высокочистых марок широко используемых промышленных полимеров. В последние годы для медицинских целей были специально синтезированы новые полимеры. В табл. 1 приводится несколько общих примеров синтетических полимеров, используемых в здравоохранении, а также случаи их применения.

Таблица 1 – Некоторые широко используемые полимеры и случаи их применения в здравоохранении

Полимеры	Применение в области здравоохранения
Полиметилметакрилат	Твердые контактные линзы, внутриглазные линзы, костные цементы, основание зубных протезов
Полиэтилен с ультравысоким молекулярным весом	Несущие поверхности в искусственных суставах
Полиэтилентерефталат	Искусственные артерии
Полиуретан	Катетеры
Полигидроксилэтилметакрилат	Мягкие контактные линзы, перевязочный материал, матрицы для выхода лекарственного препарата
Полипропилен	Нить для сшивания ран, клапаны сердца, суставы пальцев
Силикон	Имплантаты молочной железы, лицевые устройства
Полигликолид	Биораспадающаяся нить для сшивания ран

3.1. Конфигурация и конформация полимеров

Конфигурация полимера определяется химической структурой. Для преобразования одной конфигурации в другую необходимо разорвать связи.

Конформация полимера относится к его трехмерной структуре, и требуется только вращение связей для того, чтобы преобразовать одну конформацию в другую.

Атом углерода с четырьмя прикрепленными различными группами называется *хиральным центром*.

Как показано на рис. 7 существуют левые (L) и правые (D) формы хирального центра. Хиральные центры, как правило, приводят к оптической активности. Молекула может поворачивать поляризованный свет плоскости. Многие полимеры имеют хиральные центры.

Присутствие хиральных центров имеет значительные последствия для полимеров. Полимер с хиральным центром может полимеризоваться тремя способами:

- ✓ хиральные центры (левосторонний и правосторонний) могут связываться произвольно или *атактически*;
- ✓ хиральные центры могут соединяться чередующимся образом, что называется *синдиотактически*;
- ✓ хиральные центры могут связываться друг с другом с помощью одной схемы или *изотактически*.

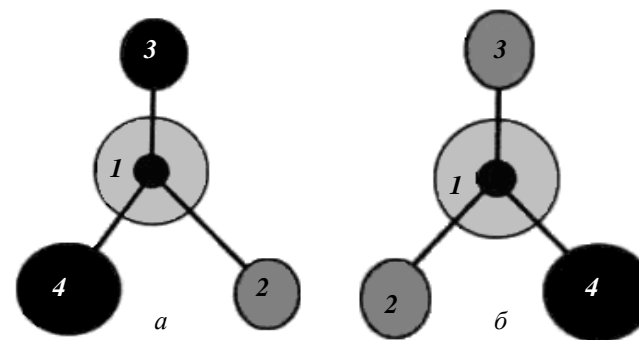


Рисунок 7 – Схема хирального центра: a – левая форма (L); b – правая форма (D)

3.2. Регулярность молекулярной структуры

Виниловые полимеры типа $\text{CHX}=\text{CHX}$ и $\text{CH}_2=\text{CXHY}$ образуют синдиотактические, атактические и изотактические формы. Полимеры типа $\text{CH}_2=\text{CHX}$ всегда являются стереорегулярными и не обладают никакой регулярностью молекулярной структуры.

Как правило, преобладает атактическая форма, если не используются специальные катализаторы, служащие для ориентации присоединения мономеров к растущей цепи, или не происходит матричный синтез, при котором мономеры присоединяются к шаблону полимера до полимеризации. Иногда при полимеризации свободного радикала присоединение мономеров к концу растущей цепи не является полностью произвольным и ведет к образованию гетеротактических цепей. Общая форма полиметилметакрилата часто называется атактической, но фактически является *гетеросиндиотактической* (смешением атактической и синдиотактической).

Полимеры не проявляют оптической активности, если хиральный центр находится в главной цепи, поскольку, в сущности, группы, образующие полимерную цепь с той и с другой стороны хирального центра, являются практически идентичными.

3.3. Температура стеклования

Все полимеры при определенной температуре претерпевают переход из стеклянного состояния в резиновое. Эта температура является *температурой стеклования* (T_g). Она совпадает с сегментным перемещением полимерных цепей и 4–5-кратным уменьшением модуля. Процессы диффузии ускоряются на несколько порядков. При комнатной температуре резиновый теннисный мяч находится выше своей температуры, а плексиглас, полиметилметакрилат, наоборот, находятся ниже.

Полимеры имеют зависящие от времени механические свойства. Они имеют характеристики как упругих твердых веществ, так и вязких жидкостей. А их свойства, в отличие от металлов и керамики, изменяются в зависимости от временных сроков испытания. Такое поведение известно под названием «вязкоупругость». Полимеры наиболее вязкоупруги при приближении к своей T_g и проявляют заметные изменения модулей, прочности и т.д., когда скорость деформации приближается к T_g .

3.4. Обработка полимеров

Одной из привлекательных характеристик полимеров является простота их обработки. Термопластичным полимерам может быть придана форма посредством:

- вакуумного формования;
- компрессионного формования;
- выдавливания (экструзии);
- формования в пресс-формах.

Вакуумное формование схематически показано на рис. 8. Лист полимера нагревается инфракрасной радиацией выше температуры стеклования полимера. Затем полимер вытягивается на шаблон посредством отрицательного давления или вакуума. Шаблоны или формы относительно просты для изготовления и относительно недорогие. Однако существуют весьма строгие ограничения, касающиеся сложности производимой формы.

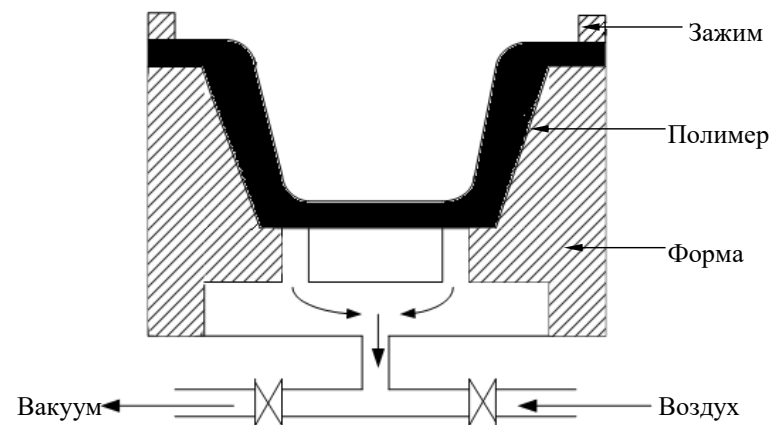


Рисунок 8 – Вакуумное формование

Компрессионное формование схематично изображено на рис. 9. Гранулы полимера нагреваются в форме необходимой конфигурации. Как только температура является достаточной для превращения полимера в пластическую массу, две половины формы соединяются, и излишек полимера выдавливается между двух половин формы. Формы являются относительно про-

стыми и дешевыми для изготовления, однако технология является трудоемкой и требует много времени по сравнению с пресс-формами.

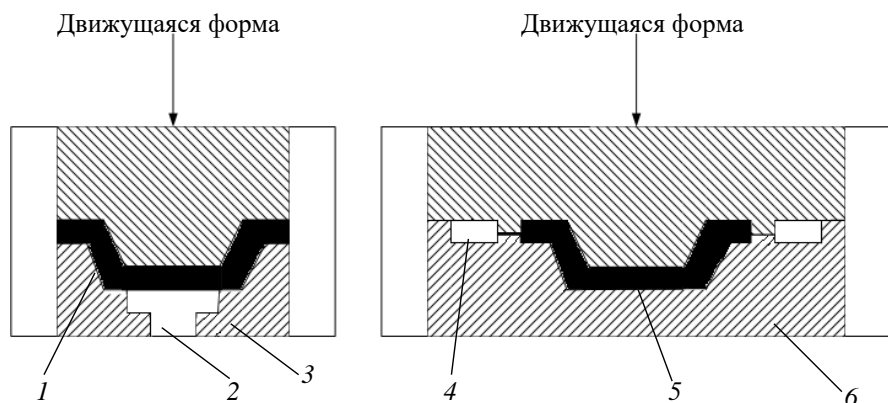


Рисунок 9 – Компрессионное формование:

1 – полимерный мешок; 2 – выталкивающая шпилька; 3 – форма; 4 – грат; 5 – полимерный мешок; 6 – фиксированная форма

Выдавливание (экструзия) – это технология, когда расплавленный полимер вдавливается в штамп и используется для производства деталей с фиксированной площадью сечения, в частности труб и прутков.

Формование в пресс-формах (инжекторное литье) схематически изображено на рис. 10. Технология включает Архимедов винт, заключенный в барабан, в который с одного конца подаются твердые гранулы полимера.

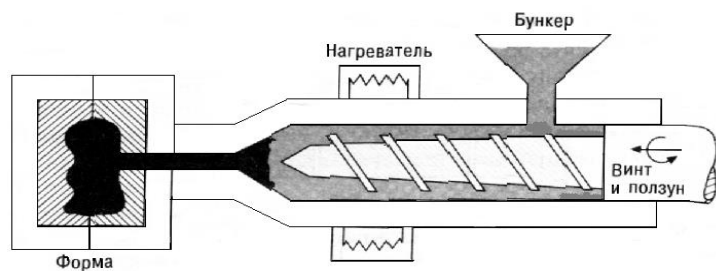


Рисунок 10 – Формование в пресс-формах

3.5. Свойства полимеров

Свойства термопластических полимеров зависят от молярной массы. Полимеры сильно переплетены в расплавленном и твердом состоянии. Де Женн предложил математическую модель для объяснения многих физических свойств полимеров на основе поверхностного сползания.

Эта модель (см. рис. 11) рассматривает цепь полимера как будто она зацепилась за трубу переплетений, образованной соседними цепями. Переплетения ограничивают движение. Движение происходит в результате покачивания цепи по трубе или поверхностного сползания.

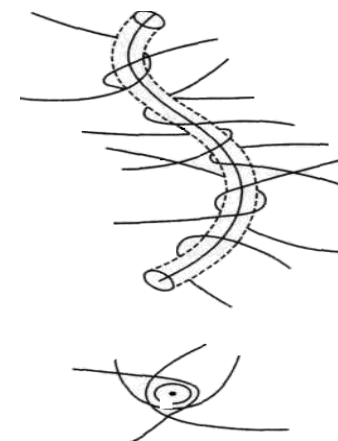


Рисунок 11 – Модель извилистой полимерной цепи в трубке, образованной другими цепями полимера

Де Женн предсказывал *правила подобия для самодиффузии, интердиффузии, растворения и вязкости как функцию длины цепи.*

Впоследствии Прентис разработал модель вытягивания цепи поверхностного сползания для разлома в термопластиках (см. рис. 12). По этой модели считается, что *разлом происходит в результате процесса распутывания, включающего протягивание и растягивание цепей полимеров по плоскости разлома.*

При вытягивании цепей из их труб расходуется энергия. *Модель Прентиса показывает, что жесткость пропорциональна молекулярному весу в*

квадрате. При высокой молярной массе имеется плоский участок кривой из-за разрыва цепи.

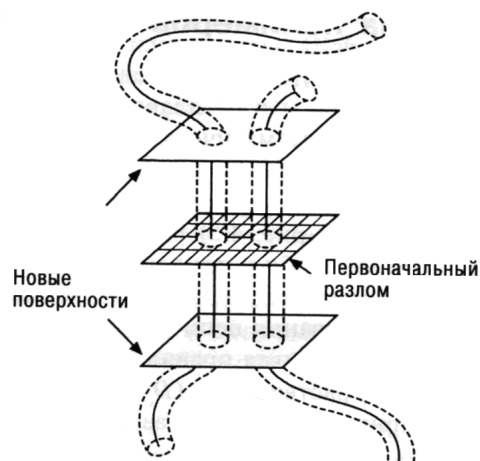


Рисунок 12 – Модель извилистой полимерной цепи, протянутой и распутанной на уровне перелома

3.6. Полимерные композиты

Полимер – это материал, состоящий из двух или более фаз, например стеклопласт. Большинство природных конструктивных биологических материалов являются *полимерными композитами*. Типичным примером является кость, которая представляет собой коллаген (белок) и апатит (керамика). Используя две фазы, мы можем регулировать и манипулировать свойствами композита. *Композиты* могут быть *изотропными* – это означает, что композит имеет те же самые свойства во всех направлениях, или *анизотропными*, т.е. когда композит имеет разные свойства в разных направлениях. Конструктивные биологические композиты оптимизированы с точки зрения их отношения прочности к весу. В их разработку вложены миллионы лет эволюционного развития. Биологические материалы почти всегда имеют анизотропные свойства. Инженеры и физики часто считают, что биологические конструкции не имеют структуры и организации, но это далеко от реальности. Биологические композиты часто являются пенными или ячеистыми

структурами, состоящими из взаимосвязанной пористой сетки для экономии веса и обеспечения вставания ткани.

Преимущество полимеров заключается в том, что они легко могут быть обработаны в сложные формы с помощью методов, являющихся уникальными для этих материалов.

4. Биокompозиты

Композитные материалы – это смесь двух или более фаз, связанных вместе так, что передача напряжения происходит по их границе. Поскольку напряжение не передается через пустоты, пористая керамика, металл или пластмасса обычно не считаются композитом, даже если материал содержит две фазы (твердую и пустоты). Если пористая структура инфильтруется тканью, она все-таки может вести себя как композитный материал, но только если стык ткани и материала является достаточно прочным для передачи напряжений.

Как правило, композитные материалы предназначены для того, чтобы обеспечивать сочетание свойств, которые не могут быть достигнуты с помощью материала, имеющего одну фазу. Известным примером является стекловолокно, в котором стеклянные волокна используются для придания жесткости полимерному компоненту (смоле), создавая, таким образом, легкий, прочный, упругий композит. Эта концепция была использована много лет тому назад в эпоксидно-керамическом биокompозите Серозиуме, который был разработан Хегером Поффериз в США в целях имитации упругих свойств кости. Однако имплантаты вышли из строя из-за биораспада полимера и нарушения связи между полимером и керамикой.

Отказ Серозиума – это пример необходимости того, чтобы медицинский имплантат выполнял одновременно функциональные требования и требования к совместимости. Большинство коммерческих композитных материалов, как правило, не могут выполнить этот критерий. Упругие свойства не соответствуют свойствам живых тканей, или биокompозитные материалы характеризуются отсутствием биосовместимости. И наоборот, кость, которая является композитом коллагена и гидроксилатапата (НА), является идеальным композитом. Фибриллы коллагена, имеющего низкий модуль упругости,

ориентированы в кости таким образом, что их прочные первичные связи параллельны приложенным напряжениям.

Высокий модуль упругости минерала кости НА обеспечивает жесткость, а прямая химическая связь между двумя фазами обеспечивает необходимую передачу напряжений.

На рис. 13 показаны механические свойства новых биокомпозитов, которые удовлетворяют как функциональным требованиям, так и требованиям к биосовместимости по сравнению с другими конструкционными материалами. С такими материалами есть возможность произвести легкое по весу и высокопрочное устройство с анизотропными свойствами, аналогичное естественной кости.

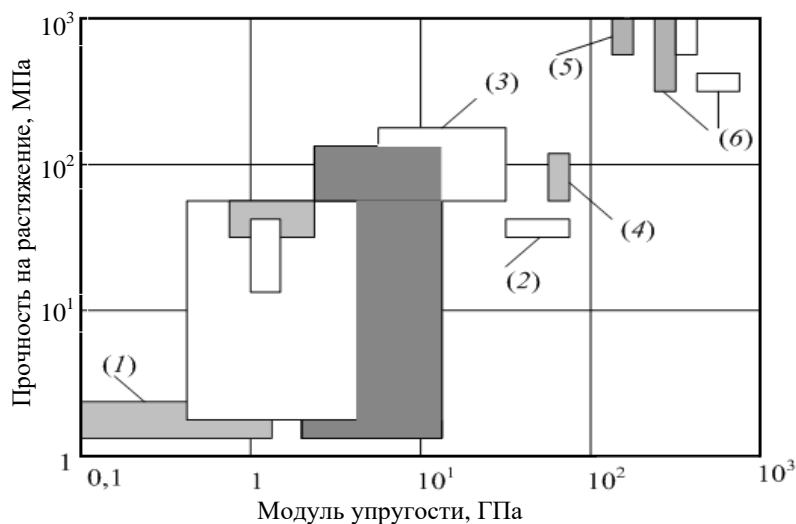


Рисунок 13 – Механические свойства различных биоматериалов:
 1 – губчатое вещество кости; 2 – биостекло (45S5);
 3 – трубчатая кость; 4 – НА; 5 – титан (6%), алюминий (4 %);
 6 – сталь с алюминиевым покрытием

Это может быть реализовано путем ориентации фазы высокого модуля в конкретных направлениях. Применение композитов в физиологической среде часто ограничивается стабильностью межфазовых связей. В случае разрыва межфазовых связей следует быстрое ухудшение механических

свойств, а продукты распада могут быть физиологически опасными. Благодаря потенциалу композитных систем серьезные исследования по этой тематике по-прежнему продолжаются. В следующих разделах настоящей главы рассматривается состояние разработок и применение различных типов биокомпозитов.

4.1. Биоактивные керамико-полимерные композиты

Наиболее успешные биокомпозиты были разработаны исследовательской группой профессора У. Бонфильда в Лондонском университете для того, чтобы их характеристики соответствовали природным компонентам кости (45 % объема составляет гидроксилapatит (НА) и 55 % объема – коллаген). В композите природный гидроксилapatит был заменен состоящим из микроскопических частиц НА, полученного по синтетической технологии. Коллаген был заменен полиэтиленом (РЕ). Полученный в результате материал был разработан в качестве аналога кости, а не в качестве несущего нагрузку ортопедического устройства и был назван НАРЕХ.

Все новые биоматериалы разрабатываются и конструируются для удовлетворения конкретной клинической потребности. Материал НАРЕХ был успешным, потому что и клиницисты, и ученые-разработчики материалов принимали совместное участие в исследованиях. *Разработка* важного композита НАРЕХ включала пять этапов и представляет собой хороший пример передачи технологии и решения нормативных вопросов по биоматериалам.

I этап. Экспериментальные исследования (1979–1981 гг.). Был произведен спектр композитов на основе состоящего из микроскопических частиц НА и высокоплотного полиэтилена (РЕ) с объемными долями НА в пределах от 0,1 до 0,6. Полученный в результате модуль Юнга находился в пределах от 1 до 8 ГПа, а деформация до выхода из строя от 90 до 3 % в зависимости от объемной доли НА.

II этап. Лабораторные испытания (1982–1988 гг.). Повторные механические испытания композита НА/РЕ показали, что верхний предел присоединения НА составляет объемную долю 0,4. Полученная в результате трещиноустойчивость сравнима с трещиноустойчивостью кортикального слоя кости. Однако биологические испытания композита *in vivo* показали, что объемные доли НА менее 0,2 приводили к тому, что материал становился биологически инертным. Несклеивающаяся волоконная капсула покрывала

композит, и никакого склеивания между имплантатом и тканями организма хозяина не происходило. Отсюда было установлено, что оптимальными пределами объемной доли является диапазон от 0,2 до 0,4. Контролирование размера частицы и морфологии в испытаниях показало, что при размере частицы равном 4 мкм, и спиральной морфологии прочное соединение наполнителя или матрицы достигается одной только механической обработкой. Был также разработан метод химического соединения, но в настоящее время он клинически не используется.

III этап. Клинические испытания и экспериментальное производство имплантата (1989–1993 гг.). Была проведена клиническая оценка не несущего нагрузки материала-аналога кости HA/PE в реконструкции подглазничного дна. Испытание показало, что хирург может подрезать композит с помощью простых хирургических инструментов в операционной. Это позволяло хирургу добиться оптимальной подгонки, а имплантату находиться в более плотном контакте с тканью организма-хозяина. Пятьдесят пациентов получили имплантаты, и последующее наблюдение показало, что испытание имело хороший результат. Материал был изготовлен двухвинтовым одновременно вращающимся экструдером, который обеспечивал однородное распределение фазы HA в полиэтиленовой матрице. После успеха этого первого клинического эксперимента последовало создание специализированного чистого производства в Международном исследовательском центре Лондонского университета по биомедицинским материалам.

IV этап. Лицензирование (1994–1995 гг.). Материал был лицензирован коммерческим производителем в качестве суррогата кости, при этом главными сферами применения называлась хирургия уха, носа и горла. Управление США по регулированию продуктов питания и медикаментов впоследствии утвердило материал, разрешив продажу британской технологии в США, а также была выдана Марка Европейского совета.

V этап. Коммерциализация (1995 г.) Композиту HA/PE было дано торговое название HAPEX, после чего последовало клиническое использование материала во всем мире. Первоначальная идея применения HAPEX в качестве материала для реконструкции глазного дна была распространена на разработку протеза среднего уха. Звук передается от барабанной перепонки на среднее ухо тремя костями, которые проводят и усиливают вибрации барабанной перепонки: молоточком, стремением и наковальней. Потеря проводи-

мого слуха – это распространенная проблема, связанная с неспособностью цепочки косточек передавать акустические вибрации улитки. Отсюда одна, две или все три косточки удаляются хирургом-отоларингологом и заменяются устройством среднего уха. Стандартным материалом, использованным для этих устройств, был политетрафторэтилен. Использовались и другие устройства, основанные на полимерах. Было разработано устройство из монолитного биостекла Bioglass, которое, как установлено, имело клинический успех, однако оно с трудом поддается формованию в операционной. В связи с этим клинический рынок остался ненасыщенным устройствами, подобными HAPEX.

4.2. Конструкторские критерии биокомпозитов

В разделе о биоактивных керамических композитах говорилось об успешном материале-заменителе для протеза среднего уха. Однако нет такой шкалы, по которой можно было бы определить лучший биоактивный композит для материалов-аналогов подвергаемой нагрузке кости.

Предложен индекс для оценки качества материала при сравнении с качеством натуральной кости. Этот индекс основывается на свойствах, которые имеют большое значение при оценке искусственных материалов, заменяющих кость. Этими свойствами являются:

- модуль упругости;
- прочность;
- трещиностойчивость;
- биоактивность.

При помощи четырех переменных возможно создать *индекс качества* (I_q) материала в сравнении с натуральной костью:

Индекс качества (I_q) = (трещиностойчивость \times показатель биоактивности \times прочность на растяжение) / модуль Юнга.

Этот порядок свойств является попыткой произвести оценку материалов, имеющих относительную прочность на растяжение и модуль упругости от среднего до низкого значения, для того чтобы избежать экранирования кости от напряжений. Кортикальный слой кости имеет значение I_q , равное 500, в то время как губчатое вещество кости имеет значение I_q , равное всего лишь 8. Компоненту уравнения «трещиностойчивость», возможно, придано больше значения в определении величины I_q , чем это требуется в реальности.

Однако Бонфильдом установлено, что трещиностойчивость является важным свойством при оценке суррогатов кости. Следует отметить, что значения, присвоенные каждому материалу, являются приблизительными; требуется выполнить дополнительный объем работ для оценки трещиностойчивости биоактивных композитов. Результаты показывают, что полисульфоновые материалы Bioglass оптимально заменяют губчатую кость. Взаимодействие между полисульфоном (PS) и Bioglass (BG) вызывает беспокойство в связи с возможностью повышения I_q уровня кортикального слоя кости. Наибольшую вероятность достижения целевых значений имеет модифицированный полисульфон. Улучшение трещиностойчивости для композита BG/PS является возможным путем последующих исследований для достижения адекватности кортикальному слою кости.

Композитные материалы из BG/PS имеют свойства, максимально приближенные к свойствам кортикального слоя кости. Этот материал также имеет биоактивность класса А. Это сочетание свойств показывает, что данный материал может быть очень ценным для ортопедических целей.

Поскольку большое количество данных по-прежнему не опубликовано, невозможно рассчитать значения I_q для всех композитов.

4.3. Инертные керамические композиты

Использование углеродных волокон и инертных стекловолокон подвергается широкому исследованию. Эти стандартные инженерные волокна использовались главным образом для усиления ортопедических устройств, в частности таких, как бедренные стволы, коленные протезы и пластины для фиксации переломов. В силу неспособности углерода и инертного стекла образовывать какие-либо биоактивные связи, они не использовались в материалах, являющихся аналогом кости.

Исследование, проведенное Джокишем в 1992 г., показало, что полиэфир-эфир-кетон (ПЕЕК), армированный углеродным волокном, обладает хорошими механическими свойствами. Толщина волокнистой капсулы вокруг армированного углеродным волокном ПЕЕК была меньше, чем у неармированного полиэтилена с ультравысоким молекулярным весом, что свидетельствует о меньшем микроперемещении устройства из ПЕЕК, армированного углеродом. Токсикологический контроль показал, что в устройстве присутствует некоторое количество отходов, но это не вызвало какой-либо значитель-

ной реакции на постороннее тело. Этот тип пластины для фиксации перелома использовался клинически, но в целом было установлено, что она не является настолько же надежной или биосовместимой, как металлические пластины.

Двадцать лет клинического опыта показывают, что металлические стволы бедра экранируют бедро от напряжений. Это привело к применению композитов при замене всего бедра. Одним из примеров является армирование полисульфона углеродным волокном. Эта конструкция имела сердцевину однонаправленного углерода / полисульфона с двунаправленными многослойными внешними слоями. Поверхность ствола была покрыта чистым полисульфоном, возможно для того, чтобы способствовать вставке устройства в тело бедренной кости. Анализ конечных элементов конструкции показал, что она приведет к минимальному расстройству физиологии кортикального слоя кости организма-хозяина. Имплантация устройства и последующее наблюдение через четыре года показали, что организм собаки проявил благоприятную реакцию на регенерацию органа. В качестве потенциального материала для стволов бедра было также предложено армирование эпоксидной смолы углеродным волокном. Однако анализ материала по конечным элементам выявил проблемы, связанные с передачей нагрузки от шейки бедренной кости, что приводит к созданию высокого риска перелома в этой области.

Были рассмотрены другие области замены всего бедра с точки зрения применения композитных технологий. Вертлужные впадины традиционно изготавливаются из полиэтилена, но, как было установлено на практике, это вызывает остеолиз (разрушение кортикального слоя кости организма-хозяина) из-за отходов износа. Прилагались усилия для улучшения долговечности таких устройств за счет дополнительного усиления углеродным волокном. Были испытаны вертлужные впадины из пластмассы, армированной углеродным волокном, путем их взаимодействия с головками бедра из окисла алюминия в имитаторе бедра. Испытание проводилось при нагрузках 2500 Н с частотой сокращения сустава 0,857 Гц. После 500 тыс. циклов бедренная головка в достаточной степени изнашивала впадину и вошла в нее на 10 мкм. После 1 млн циклов изменение глубины впадины составило всего лишь 1 мкм. Было сделано заключение о том, что впадина подходит для имплантации с учетом того, что это уменьшает износ впадин на 6 мкм каждый год. Однако другие экспериментальные данные свидетельствовали, что эти устройства не очень хорошо показали себя после имплантации и функциони-

руют менее эффективно по сравнению с первоначальным материалом. При поломке устройства углерод выходит в ткани организма-хозяина, что может вызвать кистоз, воспаление тканей и другие токсические реакции.

Композиты были также рассмотрены для применения в коленных протезах. Два компонента коленных протезов взаимодействуют друг с другом подобно естественному коленному суставу. Но в естественном суставе синовиальная жидкость и хрящ сокращают трение взаимодействующих в суставе поверхностей. Поэтому, для сокращения трения сустава, на большеберцовой пластине протеза используется полимерная поверхность. Для пожилых пациентов нормальным полимерным большеберцовым компонентом является полиэтилен ультравысокого молекулярного веса (UNMWPE), однако для молодых пациентов требуется более длительный срок службы имплантата. Большеберцовый компонент подвержен перемещениям, поэтому была рассмотрена возможность армирования устройства углеродным волокном. Механическое испытание таких устройств показало, что свойства могут быть увеличены в два раза. Однако в таком коленном протезе также наблюдалось воспаление тканей из-за присутствия углеродных волокон во взаимодействующих поверхностях.

Композитные материалы потенциально могут использоваться в подвергаемых нагрузкам ортопедических случаях применения, но очень немногие из них прошли клинические испытания. Композиты, используемые для соприкасающихся поверхностей, имеют тенденцию вызывать воспалительные процессы из-за потери углеродных частиц.

4.4. Поглощаемые полимерные матрицы

Все материалы, подробно рассмотренные в предыдущих разделах, использовались с поглощаемыми матрицами из полиэфира. Два основных используемых полимера – полигликолевая кислота (PGA), полимолочная кислота (PLA) и их сополимеры. Полимолочная кислота распадается, образуя нетоксичную молочную кислоту, которая в результате обмена веществ превращается в двуокись углерода и воду, и легко выводится из организма. *Преимущество этих полимеров* заключается в том, что они имеют зависящие от времени механические свойства; скорость распада (резорбции) уменьшается при увеличении объемной доли PGA. Было доказано, что добавление произвольно ориентированного нарезанного углеродного волокна улучшает

механические свойства до уровня свойств чистого полимера, но значения прочности все же остаются недостаточными для случаев применения с использованием нагрузок. Было испытано армирование длинным углеродным волокном с ориентацией 0° и $\pm 45^\circ$. Первичные свойства были аддитивными, однако волокна не соединялись с PLA, и расслоение приводило к быстрой потере прочности. Отсюда потребовалось соединение полимера с волокном. Был разработан полностью распадающийся имплантат с помощью стекловолокон фосфата кальция. Механические свойства были многообещающими, но высокая скорость распада композита привела к выходу протеза из строя до того, как перелом кости успевал зажить.

В качестве разумного поглощаемого аналога кости был использован Полиактив (РА), сегментированный сополимер полиэтиленоксид терефталат (РЕОТ) и полибутилентерефталат. Испытания этого материала в модели дефекта у кролика показывают, что он обеспечивает большую степень врастания кости по сравнению с пустым участком, однако РА не стимулирует врастание кости таким же образом, как биоактивная керамика. Самоармирующиеся композиты, образованные из PLA и PGA, были также подвергнуты испытанию на механические свойства наряду с дополнительным армированием углеродным волокном.

Эти полимеры и их композиты не подходят для основных случаев применения с использованием нагрузок, но подходят для небольших устройств фиксации перелома, не находящихся под нагрузкой (например, заменитель сустава пальца).

Интерес к этой области биокompозитов очень велик. Существует *два очевидных и отличительных преимущества этих типов материалов:*

- ✓ по мере поглощения полимера уменьшается экранирование напряжений;
- ✓ имплантат просто растворяется, поэтому необходимость во второй операции отсутствует, в отличие от использования металлических пластин в фиксации перелома.

Дальнейшая разработка технологий обработки для получения этих композитов привела к добавлению биоактивных керамических фаз. Добавление трикальцийфосфата (TCP) к сополилактиду (CPLA) дало в результате композит с прочностью на изгиб, равной 52 ± 3 МПа, модулем Юнга, равным 5 ± 1 ГПа и сопротивлением разрушению, равному 52 ± 3 МПа. Таким обра-

зом, этот материал соответствует приблизительно половине требуемых свойств кортикального слоя кости, но не обладает преимуществом костной проводимости, и матрица является поглощаемой. Именно этот класс биокompозитов, вероятно, будет играть значительную роль в будущем.

То, что композиты играют важную роль в современной медицине, доказывалось и подчеркивалось неоднократно, однако разработка такой технологии требует много времени и средств. Многие хирурги требуют, чтобы ученые, занимающиеся материалами, срочно решили эту проблему. Статистика, свидетельствующая о том, что композиты вызывают серьезные клинические проблемы, очень незначительна.

Однако один из материалов, о котором стоит упомянуть, – это Proplast. Этот материал был разработан в качестве композита политерафторэтилена и пиролизованного углерода для усиления мягких тканей, где он имел клинический успех. Получившийся черный материал имел 70–90 % пористости с порами размером в пределах 80–400 мкм, которые способствовали врастанию мягких соединительных тканей. Применение этого композита под нагрузкой, в частности, в височном нижнечелюстном суставе, закончилось неудачно. При имплантации в подбородочную область собаки материал проявил очень плохую биосовместимость. Все имплантаты были свободными и не имели врастания кости. Однако имелись большие объемы волокнистой ткани, содержащие клетки-гиганты, макрофаги и лейкоциты. Были также отмечены некоторые признаки того, что материал вызвал эрозию находящейся в его основе кости. Прилегающие ткани также содержали гранулемы с фрагментами материала Proplast. *Основной недостаток этого материала* – это распад и выделение углерода, который выходил из материала и вызывал воспалительную реакцию. Испытание данного материала с нагрузкой помогло бы выявить потенциальные проблемы и позволило бы избежать клинических неудач.

Многие прошедшие испытание композиты не достигли клинического успеха, поскольку новые технологические разработки зачастую приводили к тому, что продукт устаревал и больше не обеспечивал оптимальное решение клинических потребностей.

5. Клетки и ткани

Понимание действия биоматериалов в организме требует совместных исследований многих дисциплин. Воздействие (в своей простейшей форме) физиологической среды на материалы определяют ученые-материаловеды и инженеры, а воздействие материала на организм изучают биологи и клиницисты.

5.1. Основные определения

Биосовместимость – это наличие двух существенных свойств: отсутствия токсичности и эффективного функционирования. Этот термин, возможно, часто неправильно употребляется в исследованиях биоматериалов и для описания этих материалов. Биосовместимость не является свойством материала.

Гистология – анализ строения нормальных тканей и органов под световым микроскопом.

Гистопатология – анализ патологических особенностей тканей и органов под световым микроскопом.

Железа внешней секреции – железа, которая высвобождает свой продукт секреции через проток.

Железа внутренней секреции – железа, которая высвобождает свой продукт секреции непосредственно в кровеносное русло.

Макрофаг – клетка размером приблизительно 10–12 мкм, которая может поглощать и переваривать или выделять частицы инородного материала.

Мышцы – орган, в основном образованный мышечной тканью, клетки которой способны сокращаться, обуславливая движение. Произвольное сокращение скелетных мышц регулируется центральной нервной системой, а непроизвольные сокращения гладкой мускулатуры – вегетативной нервной системой (сердце, мышцы в кишечнике).

Нейтрофил – клетка размером 3–5 мкм, которая может поглощать и переваривать или выделять инородные макромолекулы и очень мелкие частицы.

Нервная ткань – ткань, передающая и проводящая сигналы к органам и от органов. Различают центральную нервную систему (головной мозг и спинной мозг) и периферическую (нервы).

Орган – функционирующая часть организма, состоящая из различных комбинаций тканей.

Остеобласт – клетка, образующая кость.

Остеокласт – клетка, разрушающая кость.

Остеоцит – покоящаяся клетка костной ткани.

Реснички – небольшие похожие на волоски выступы на свободной поверхности клетки, перемещающие материал по клеткам посредством синхронного биения.

Соединительная ткань – ткань, окружающая, соединяющая, питающая и поддерживающая все другие ткани и органы. Кровь, мягкие ткани, кости, жировая ткань и хрящ – это все соединительные ткани.

Токсичность – отрицательное влияние, вызывающее изменения (патологию) органов и тканей, обнаруживаемые при гистопатологическом исследовании.

Фибробласт – клетка, продуцирующая волокна и основное вещество соединительной ткани.

Хондробласт – клетка, образующая хрящ.

Хондроцит – покоящаяся клетка хрящевой ткани.

Эпителий – покровная ткань, которая подстилает и защищает органы.

Она может поглощать, выделять и выводить разнообразные вещества.

Существует только *четыре основные группы тканей*:

- ✓ эпителиальная;
- ✓ соединительная;
- ✓ мышечная;
- ✓ нервная.

Сочетаясь друг с другом в различных пропорциях, ткани образуют органы в иерархической структуре. Хотя все органы содержат все четыре компонента тканей, в этой области самыми важными являются соединительные ткани. Все экспериментальные процедуры и конструкции с применением биоматериалов вынуждены нарушать соединительные ткани, и именно реакция этих тканей определяет успех или неудачу устройства.

5.2. Эпителий

Клетки эпителия покрывают, подстилают, поглощают и выделяют. Описанием этих клеток служит их внешний вид на гистологических срезах. Эпителий может быть простым и однослойным, а также сложным и многослойным.

Независимо от того, простой эпителий или сложный, его образуют три типа клеток:

- плоские;
- кубические;
- цилиндрические.

Плоские клетки. В плоских клетках выделяется центральное ядро (см. рис. 14). Эти клетки образуют однослойный или многослойный плоский эпителий, например эпителий стенок кровеносных сосудов (см. рис. 15). Там, где можно наблюдать несколько слоев плоских клеток, они образуют сложный эпителий.

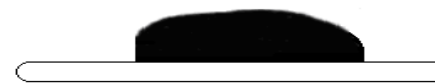


Рисунок 14 – Схема плоской клетки

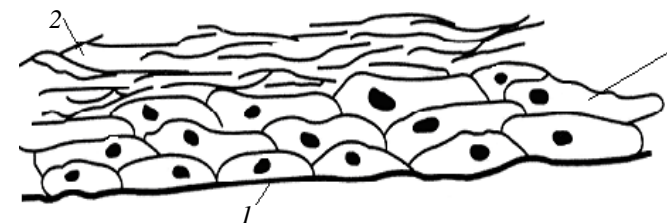


Рисунок 15 – Схема плоского эпителия:

1 – базальная мембрана; 2 – бесклеточный (мертвый) материал;
3 – ядерные клетки

В схеме плоского эпителия имеется множество слоев, причем слои, находящиеся у основания, имеют ярко выраженные ядра, отсутствующие в поверхностных слоях, состоящих из бесклеточного (мертвого) материала. Это типично для защитного эпителия, восстанавливающегося из базального слоя, когда он подвергается повреждению или истиранию. Мертвым материалом является кератин, представляющий собой белок. Такой ороговевший эпителий можно найти на коже, а также в верхнем и нижнем концах пищеварительного канала, в верхней части дыхательных путей и во влагалище.

Второй вид сложного многослойного эпителия встречается в виде слоев клеток с ядрами на всем своем протяжении. Его называют переходным эпителием; он встречается в мочевыводящих путях (выстилает мочевой пузырь).

Кубические клетки. Клетки, высота и ширина которых в разрезе одинаковы, называются кубическими (иногда кубовидными). Эти клетки у своего основания покоятся на мембране, которая играет существенную роль в выполняемой ими функции. Простой эпителий, покрывающий и выстилающий такие органы, как почки и яичники, представляет собой однослойный кубический эпителий (см. рис. 16).

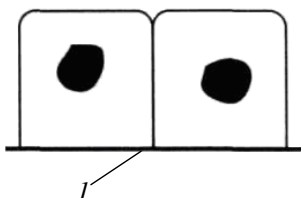


Рисунок 16 – Схема клеток кубического эпителия:
1 – базальная мембрана

Кубический эпителий в виде множества слоев не встречается, но может называться сложным, если клетки имеют микроворсинки (реснички). Наличие мелких ворсинок на свободной поверхности клетки (см. рис. 17) свидетельствует о том, что клетка способна перемещать частицы или аналогичный материал посредством синхронного биения этих волосков. Такой мерцательный эпителий можно найти в фаллопиевой трубе, где они перемещают яйцеклетки.

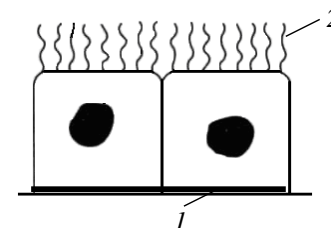


Рисунок 17 – Схема реснитчатого мерцательного эпителия:
1 – базальная мембрана; 2 – реснички

Цилиндрические клетки. Клетки, у которых высота в несколько раз больше ширины, называются цилиндрическими. Эти клетки образуют однослойный цилиндрический эпителий, выстилающий большую часть дыхательной системы, а также пищеварительного канала.

Цилиндрические клетки могут также иметь реснички, перемещающие частицы (см. рис. 18). Однослойный многорядный реснитчатый эпителий выстилает воздухоносные пути, а также располагается в среднем ухе; он выстилает яички, где мерцательные реснички перемещают сперму, прежде чем клетки не станут подвижными. Реснитчатые клетки не встречаются в пищеварительном канале, поскольку реснички слишком хрупки для того, чтобы выдержать массу содержимого пищеварительного канала.

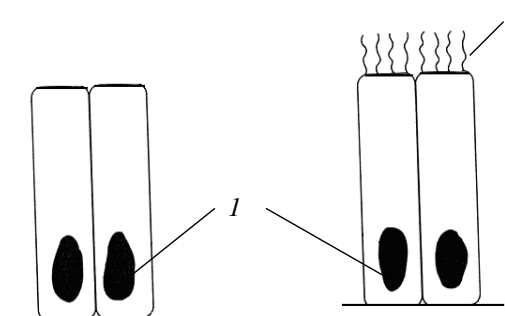


Рисунок 18 – Схема цилиндрических клеток:
1 – ядро; 2 – реснички

Расслоения цилиндрического эпителия не существует, однако в пищеварительном канале наблюдается псевдорасслоение.

Как показано на рис. 19, то, что кажется нагромождением слоев цилиндрических клеток с различным расположением ядер, при более внимательном рассмотрении оказывается слоем клеток разной высоты с ядрами на разных уровнях, однако все клетки контактируют с базальной мембраной, т.е. многоядный эпителий является однослойным. Складчатая мембрана и многоядность клеток позволяют выстилке пищеварительного канала компенсировать значительные изменения формы и размеров канала при пищеварении.



Рисунок 19 – Псевдорасслоенный (многорядный) цилиндрический эпителий

Цилиндрический эпителий, выстилающий пищеварительный канал и воздухоносные пути, может и далее видоизменяться и секретировать слизь. В пищеварительной системе слизь выделяется бокаловидными клетками для защиты желудка от кислоты, содержащейся в пищеварительном соке, а впоследствии и для смазки каловых масс по мере их обезвоживания в нижней части пищеварительного канала. В дыхательных путях слизь служит для улавливания бактерий и частиц, присутствующих в легких и бронхах. Эта слизь (мокрота) впоследствии удаляется при кашле или глотании.

Секреция веществ в различные системы организма, включая кровеносную, – это свойство железистых кубических и цилиндрических эпителиальных клеток. Эти клетки образуют структуры, называемые *железами*. Секреты могут представлять собой пищеварительные ферменты, как в случае слюнных желез; более сложные комплексы веществ, как в случае печени или молочной железы; или гормоны, как, например, секреты надпочечников, гипофиза и других желез. Комплексы клеток организуются в группы с центральным каналом для отвода секрета. Их называют *экзокринными железами*. Слюнные железы, молочная железа, печень и поджелудочная железа – это примеры экзокринных желез.

Группы клеток-желез, не имеющие канала и выводящие секрет непосредственно в кровоток, называются *эндокринными железами*. Надпочечник, гипофиз, щитовидная железа и островковые (инсулярные) клетки поджелудочной железы – это примеры эндокринных желез. На рис. 20 показана схемы экзокринной и эндокринной железы.

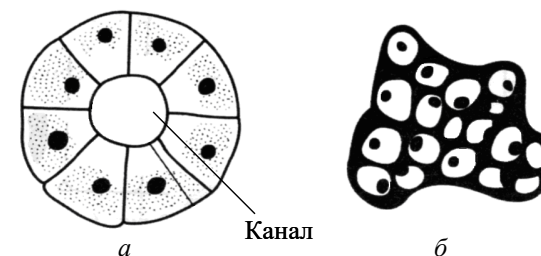


Рисунок 20 – Схемы экзокринной и эндокринной железы:
а – экзокринная железа; б – эндокринная железа

5.3. Соединительная ткань

Существует множество типов соединительных тканей, которые имеют мало общего между собой (кроме присутствия в органах и вокруг органов). У всех из них имеется *три компонента: клетки, волокна и промежуточное вещество*. Часто проводят различие между твердой (кость, эмаль и дентин) и мягкой тканью. Важно помнить, что существует несколько типов мягкой ткани с разными свойствами, начиная от жидкости (кровь) до гибкой ткани (дерма и жир) и кончая жесткими видами ткани (хрящ). Именно изменчивость промежуточного вещества и волокон позволяет объединять эти на первый взгляд различные ткани в одну группу.

Соединительные ткани включают два класса клеток:

- клетки, которые производят волокна и промежуточное вещество;
- клетки защитных систем организма, которые перемещаются в нем.

Это клетки, участвующие в воспалительном процессе, поглощающие и удаляющие инородный материал, в частности бактерии, кусочки ткани и кусочки материалов. Они называются *микрофагами* или *макрофагами* в зависимости от размера поглощаемых частиц.

Волокна соединительной ткани обеспечивают механические свойства ткани и главным образом состоят из коллагена или эластина. Промежуточное вещество, в котором перемещаются эти компоненты, обеспечивает опору, а также транспорт питательных веществ и продуктов обмена веществ.

На рис. 21 показана схема клеток и внеклеточного матрикса мягкой соединительной ткани.

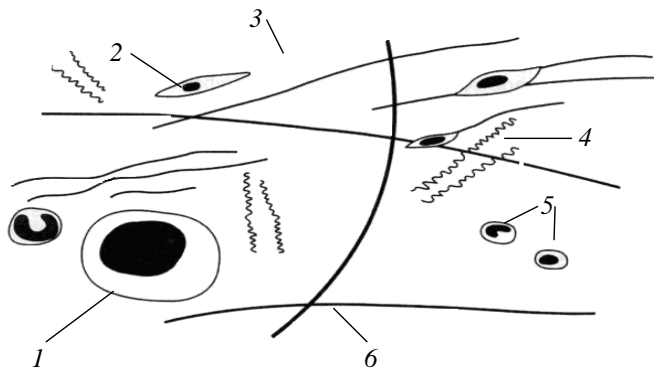


Рисунок 21 – Схема клеток и внеклеточного матрикса мягкой соединительной ткани: 1 – макрофаг; 2 – фибробласт;

3 – промежуточное вещество; 4 – эластиновые волокна; 5 – микрофаги; 6 – коллагеновые волокна

В зависимости от относительных пропорций трех компонентов *соединительная ткань может называться рыхлой, плотной, волокнистой или эластичной*. Костные клетки (остеобласты, остеокласты и остеоциты) формируют и оформляют контуры кости. В dentине зубов процесс, в сущности, такой же. Волокна в основном состоят из коллагена, который для прочности находится в минерализованном состоянии. В дерме (плотной или волокнистой соединительной ткани) имеются фибробласты, производящие коллаген и эластин, и макрофаги, выполняющие защитную функцию и участвующие в заживлении ткани. В жировой или выстилающей соединительной ткани (рыхлой или ареолярной) имеются тучные клетки и относительно мало волокон. Хрящ наружного уха и кончика носа (эластичный хрящ) содержит хондробласты в качестве клеточного компонента и преобладающее

количество обеспечивающих гибкость эластиновых волокон. В этом случае, так же как и в других типах хряща, промежуточное вещество является плотным и не содержит кровеносных сосудов.

Все питательные вещества и продукты выделения перемещаются через промежуточное вещество посредством диффузии, которая является неэффективным способом распределения. Это обстоятельство следует учитывать при изучении хряща. Кровь, представляющая собой особый случай, соответствует общей схеме, характерной для соединительных тканей. Она содержит комплекс красных и белых клеток. Волокна растворимы и обеспечивают свертывание крови, а промежуточное вещество представляет собой сыворотку, жидкую часть крови без белков плазмы.

5.4. Мышцы

Мышцы состоят из пучков отдельных волокон, каждый из которых обладает способностью сокращаться и расслабляться. Это свойство связано с сократительными белками, из которых состоят волокна. Мышцы перемещают тело посредством костей и суставов и управляют движением пищеварительного канала, дыханием, циркуляцией крови и лимфы. Существует три главных вида мышц.

1. *Гладкие мышцы* под микроскопом представлены в виде пучков лентовидных клеток, у которых ядра находятся непременно в центре и которые не имеют характерной окраски (см. рис. 22). Гладкие мышцы находятся повсюду в дыхательной, пищеварительной и кровеносной системе. Их сокращение непроизвольное и контролируется вегетативной нервной системой.



Рисунок 22 – Схема клеток гладкой мышцы

2. *Скелетные мышцы* представлены в виде пучков волокон, в которых невозможно различить отдельные клетки, ядра находятся на периферии пучка и ткань имеет поперечную исчерченность (см. рис. 23). Наличие полос может быть усилено специальной окраской. Эти мышцы сокращаются произвольно и контролируются центральной нервной системой.

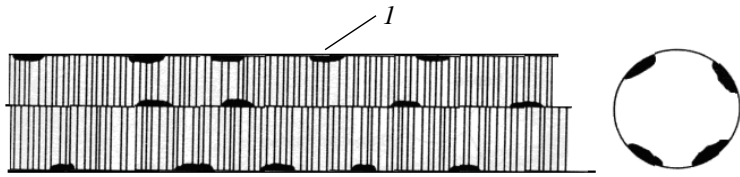


Рисунок 23 – Схема клеток скелетной мышцы: 1 – периферические ядра

3. *Сердечная мышца* находится только в сердце и представляет собой пучки поперечно исчерченных мышечных волокон, имеющих центрально расположенные ядра (см. рис. 24). Можно наблюдать ветвление пучков, а также при соответствующих условиях обнаружить структуры, называемые вставочными дисками, которые встречаются только в этой мышце. Сердечная мышца сокращается произвольно.

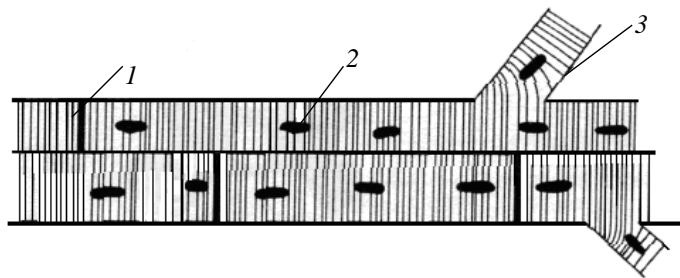


Рисунок 24 – Схема клеток сердечной мышцы:
1 – вставочный диск; 2 – центральное ядро; 3 – ветвление

5.5. Нервная ткань

Нервная ткань встречается в центральной нервной системе, в мозге и спинном мозге, а также в периферической нервной системе в виде передающих сигналы всем органам, пучков волокон, которые в обиходе называют нервами.

Центральная нервная ткань находится в мозге и спинном мозге. Она состоит из клеток, называемых нейронами, обменивающихся сигналами друг с другом по сети тонких отростков, именуемых дендритами. Кроме того, нейроны передают сигналы на более протяженные расстояния посредством

одного длинного отростка, именуемого аксоном. Аксон изолирован воскообразной непрерывной оболочкой, которая называется миелиновой. Невооруженному глазу области, главным образом состоящие из клеток, представляются серыми, а покрытые миелиновой оболочкой аксоны – белыми. Отсюда произошли термины серое и белое вещество, по-прежнему применяемые для описания центральной нервной системы.

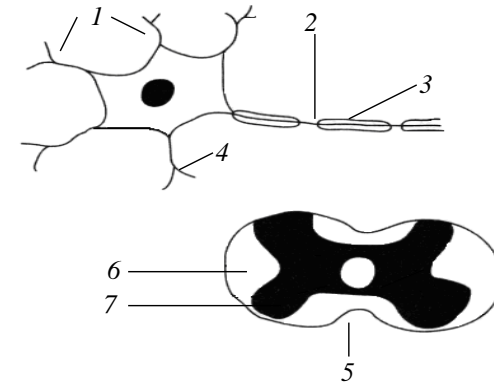


Рисунок 25 – Схема нервной клетки и поперечное сечение спинного мозга:
1 – нервы; 2 – перехват Ранвье; 3 – миелиновая оболочка; 4 – дендриты;
5 – спинной мозг; 6 – белое вещество; 7 – серое вещество

Нервы периферической нервной системы – это, в сущности, пучки аксонов, проходящих вместе с сопровождающими их соединительными тканями ко всем частям тела.

6. Воспаление и заживление ран

Цель настоящего раздела – дать представление о реакциях, происходящих в процессе нормального заживления ран, о скорости, с которой они происходят, а также об изменениях этих реакций в результате присутствия имплантированного биоматериала. Эти изменения могут быть вызваны различными свойствами имплантата: его формой, размером, химическим составом и механическими свойствами поверхности или всего материала. Актуальность этих изменений является критической частью исследования имплантата и его материала.

6.1. Основные определения

Воспаление – это состояние, вызываемое повреждением ткани, характеризующееся покраснением, повышением температуры, напряженностью и болью.

Гигантские клетки – очень большие клетки (40–100 мкм), формирующиеся в соединительной ткани, когда подлежащий удалению материал является слишком большим для отдельных макрофагов. Они образуются из группы макрофагов в результате объединения этих клеток в синцитий. Гигантские клетки могут иметь несколько сотен ядер, и часто можно наблюдать, как на шероховатой поверхности они тщетно пытаются поглотить неровности поверхности. Гигантские клетки не делятся и относятся к короткоживущим клеткам, поэтому их присутствие в течение некоторого времени после имплантации является признаком нежелательного, персистирующего воспаления.

Макрофаги – крупные клетки (10–12 мкм), способные, по сравнению с полиморфами, поглощать, переваривать и перемещать более крупные частицы. Макрофаги образуются из моноцитов, которые циркулируют в кровеносных сосудах ткани. Покоящиеся моноциты, или гистиоциты, впоследствии активируются и в качестве макрофагов перемещаются в поврежденную ткань.

Микрофаг – небольшие клетки (3–5 мкм), поглощающие маленькие частицы, в частности бактерии, макромолекулы или кусочки ткани. Их чаще называют полиморфами.

Полиморфы – также известные под названием «полиморфно-ядерные нейтрофилы». Это циркулирующие белые клетки, или лейкоциты, перемещающиеся при необходимости из кровеносных сосудов в соединительную ткань.

Фагоцит – это любая клетка, способная поглощать чужеродный материал.

6.2. Влияние имплантации

Имплантация любого биоматериала вызывает повреждение ткани организма-хозяина и неизбежное воспаление. Последствия повреждения ткани при хирургическом вмешательстве следует отличать от последствий, вызванных имплантатом. Непрерывающиеся изменения ткани, вызываемые присутствием материала, могут носить как механический, так и химический характер. Эти изменения следует понимать, для того чтобы их можно было контролировать и чтобы ими можно было манипулировать для конкретного случая применения. *Заживление ран и воспаление контролируются соединительной тканью*, которая обеспечивает кровоснабжение. Без адекватного кровоснабжения заживления раны не происходит.

Для того чтобы разобраться в том, каким образом ткани реагируют на имплантат, вначале необходимо хорошо представлять себе нормальный процесс воспаления и заживления ран, а также способы, посредством которых свойства имплантата могут влиять на этот процесс.

6.3. Нормальное заживление

Воспаление в период заживания раны является естественным следствием имплантации любого биоматериала. Существует три стадии нормального заживания раны: клеточная фаза, волокнистая фаза и фаза зрелости. Нарушение любой из этих фаз в результате выделения токсических химических веществ или в результате микроперемещения приведет к хроническому воспалению и к присутствию гигантских клеток в полностью не заживающей ране.

1. *Клеточная фаза.* Фаза, на которой численность клеток резко увеличивается по сравнению с тем количеством клеток, которое наблюдается в нормальной ткани. Первоначально это в основном фагоциты, но по мере того, как воспаление проходит, численность фагоцитов сокращается, а число фибробластов растет.

2. *Волокнистая фаза.* Фаза, в течение которой фибробласты синтезируют волокна, в особенности коллаген.

3. *Фаза зрелости.* Фаза разрешения или созревания, в течение которой ориентируются и перестраиваются волокна коллагена для максимального соответствия первоначальной ткани.

Воспаление – это местное воздействие, наблюдаемое в виде покраснения, нагревания и напряжения в тканях. Поврежденная ткань и бактерии выделяют химические вещества, главным образом гистамины и простагландины, приводящие к расширению кровеносных сосудов для подачи большего количества крови, а отсюда и большего количества лимфоцитов. Это создает характерные признаки воспаления. Расширение сосудов становится достаточным для того, чтобы допустить приток жидкости и клеток в соединительную ткань.

В табл. 2 представлена классификация белых клеток крови. Первая волна белых клеток крови – это макрофаги (или полиморфы), которые могут поглощать и переваривать бактерии и мелкие молекулы. Затем макрофаги (гистиоциты) становятся подвижными и присоединяются к моноцитам, циркулирующим в крови. Приток жидкости в ткани вызывает распухание и напряженность, которые ассоциируются с воспалением. Жидкость уменьшает концентрацию вредных веществ и способствует движению клеток. Это является первым этапом в заживлении раны.

Таблица 2 – Классификация белых клеток крови

Лейкоциты	Зернистые	Нейтрофилы
		Эозинофилы
		Базофилы
	Незернистые	Лимфоциты
		Моноциты

Любое нарушение целостности ткани заполняется свернувшейся кровью, которая восстанавливает поверхность ткани и служит каркасом для перемещения клеток по градиентам концентрации веществ. Важным фактором является то, что полиморфы с поглощенным материалом погибают на месте, так что любая рана может содержать мертвые клетки и поглощенный ими материал. Если это была инфекция, то в этом случае скопление бактерий и мертвых полиморфов образует гной, от которого следует очистить рану для дальнейшего заживления.

Однако в большинстве ситуаций инфекция и гной отсутствуют, и данная ранняя фаза достигает пика приблизительно через четыре часа после по-

вреждения. После полиморфов в область воспаления перемещаются макрофаги и продолжают удаление поврежденного материала. Эта стадия доходит до пика приблизительно через три дня. Пока макрофаги активны, они продуцируют ферменты, мешающие синтезу коллагеновых волокон фибробластами. По мере того как рана вычищается макрофагами, новые кровеносные сосуды начинают внедряться в эту область. Фибробласты размножаются там, где наружное давление кислорода является высоким, по соседству с новыми кровеносными сосудами, и их количество увеличивается и достигает пика к пятому дню.

К седьмому дню клетки представляют собой главным образом фибробласты, а макрофаги становятся неактивными. Между макрофагом и фибробластом существует тонкое равновесие, так что размножение фибробластов и синтез коллагеновых волокон происходят в соответствующее время. Сначала фибробласты продуцируют неориентированные коллагеновые волокна. Это продолжается до 12-го дня.

Далее наступает окончательная стадия, на которой формируется прочная ткань. Иногда ее называют стадией созревания. В этот период коллагеновые волокна выстраиваются вдоль линий напряжения в области воспаления. С помощью коллагеназы (фермента, разрушающего избыточный коллаген и фибробласты) окончательное количество и ориентация волокон коллагена на месте воспаления приближаются к количеству и ориентации коллагена в нормальной ткани. Это является идеальным результатом заживления раны. Однако она не будет такой же прочной, как нормальная ткань.

6.4. *Заживление раны и имплантаты*

Изменения, происходящие при воспалении и заживлении раны, являются важными факторами для имплантации, поскольку каждое вмешательство ведет к появлению таких изменений. Необходимо всегда различать изменения из-за материала от лежащего в их основе процесса заживления. Было доказано, что изменения в любой резаной ране, происходящие в силу хирургического вмешательства, продолжают, по крайней мере, две недели. Только после этого можно предполагать, что в воспалении виноват материал.

Движение жидкости и химических веществ будет отличаться в зависимости от того, является ли имплантат твердым или пористым.

Существуют факторы, связанные с имплантированным материалом, которые значительно меняют нормальную схему течения заживления раны.

1. Ранняя стадия (с полиморфами) будет более продолжительной, если в некоторых полимерах имеются токсичные вымываемые вещества, например пластификаторы.

2. Если имплантат перемещается в ткани и вызывает повреждение, клеточная фаза будет продлеваться настолько, насколько долго это будет продолжаться. Кроме активности макрофагов, могут возникать гигантские клетки, не видимые при нормальном заживлении раны.

3. Новые кровеносные сосуды, играющие критическую роль в процессе заживления, могут только приближаться к твердой поверхности, но могут и внедряться в пористую поверхность.

4. Если имплантат распадается (преднамеренно или нет, химически или механически) клеточная фаза будет продлеваться, и появятся гигантские клетки.

5. Если поверхность является или становится грубой, макрофаги и гигантские клетки останутся до тех пор, пока она не станет гладкой.

6. До тех пор пока макрофаги не покинут место воспаления, фаза образования волокон коллагена будет откладываться.

7. В течение окончательной стадии перестройки коллагеновые волокна ориентируются вдоль линий напряжения, которые зависят от формы, размера и свойств имплантата. Именно на этой стадии определяется характер капсулы вокруг имплантата, ее толщина и форма, а также будет ли она прилегающей или нет.

6.5. Взаимодействие между имплантатом и тканью

Очевидно, что никакой имплантированный материал не является полностью инертным. Его присутствие неизменно влияет на процесс нормального заживления ран. *Реакция ткани на имплантат позволяет делить материалы на четыре главные категории.*

1. Если материал токсичный и либо сам материал, либо какое-то его производное убивает клетки и окружающую ткань, то он является неприемлемым в качестве любого имплантата. Иногда ожидаемое токсическое воздействие может происходить из вымываемого вещества в материале, однако

знание химии и анализ опубликованной литературы должны предотвратить имплантацию токсических материалов. Но в некоторых испытаниях, которые требуются регулирующим органам, может потребоваться контрольный материал известной токсичности для того, чтобы можно было выразить количественно его воздействие.

2. Если материал является почти инертным, вокруг него будет образовываться волокнистая неприлегающая капсула: чем тоньше капсула, тем материал является более успешным. Силиконовая резина является почти инертным материалом.

3. Если материал является биоактивным, возникает прилегающая межповерхностная связь, и имеет место минимальная инкапсуляция, если таковая вообще происходит. Биоактивные стекла представляют собой пример таких материалов.

4. Если материал является биоразрушаемым, происходит его растворение, и материал заменяется тканью организма хозяина. Важно, чтобы продукты растворения были нетоксичными и легко перерабатывались в результате обмена веществ, а также, чтобы структурная целостность места имплантации была совместима со скоростью растворения. Материалы, используемые для разрушающихся хирургических нитей, представляют собой примеры таких материалов.

Множество факторов влияет на взаимодействие между поверхностями ткани, и везде промежуточным звеном являются клетки. *Любой материал, который в предназначенном для него случае применения создает минимальные изменения в ткани, может быть назван биосовместимым.*

В настоящее время имеется огромное разнообразие биоматериалов для имплантации, и понимание реакции ткани позволяет специалисту по биоматериалам подобрать такой, который будет оптимально функционировать. Биосовместимый материал – это такой материал, который обладает способностью функционировать при соответствующей реакции организма хозяина в конкретном случае применения.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение «металлические материалы».
2. Перечислите факторы, которые определяют выбор металлов и сплавов в качестве биоматериалов.
3. Что такое металлическая связь? Охарактеризуйте её.
4. Что описывается (характеризуется) уравнением Холла – Печа и приведите его.
5. Что такое модуль Юнга?
6. Что такое пластическая деформация?
7. Что такое коррозия и её особенности при контакте с биологическими тканями?
8. Что такое твердость, жесткость, усталость и износ металла?
9. Что такое запоминание формы и сверхупругость? Привести пример металла с памятью формы.
10. Как воздействует обработка на структуру, свойства и надежность металла?
11. От какого слова происходит термин «керамика» и дайте ей определение.
12. Какова технология производства керамических изделий?
13. Какими характеристиками обладает керамика?
14. Перечислите факторы, предъявляемые к керамике как к биоматериалу.
15. Что такое силикатное стекло, стеклокерамика?
16. Какой параметр керамического или стеклянного материала определяется уравнением Гриффита?
17. Охарактеризовать твердость и износ биокерамики.
18. Что такое термоотверждаемые и термопластичные полимеры?
19. Охарактеризуйте аморфные и кристаллические полимеры.
20. Какие факторы влияют на степень кристалличности полимера?
21. Что такое температура стеклования полимера?
22. Какие есть формы обработки полимеров?
23. Перечислите свойства биополимеров
24. Что такое полимерные композиты?

Часть II. КЛИНИЧЕСКИЕ ПОТРЕБНОСТИ И ПОНЯТИЕ О РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ

7. Скелет

Около 208 костей скелета действуют в качестве остова, 501 мышца обеспечивает координацию, позволяющую людям ходить вертикально и бегать. В данном разделе дается описание основных особенностей кости и других скелетных конструкций. Кости, как правило, представляют систему рычагов, связанных друг с другом и перемещаемых соединениями, или суставами. Суставы значительно отличаются по своей структуре и функциям. В конечностях суставы являются высококомобильными и имеют подкладку из суставного хряща. Движения позвоночного столба ограничены, но достаточны благодаря соединению друг с другом тел позвонков. Кости черепа соединены, но не полностью неподвижны.

Мощность и точность опорно-двигательной системы демонстрируется при подъеме с земли какого-то предмета. Информация о предмете передается по оптическим путям, двигательная область коры головного мозга координирует движения плеча, локтя и запястья до тех пор, пока вытянутые пальцы не коснутся предмета.

Контакт с предметом регистрируется тактильными рецепторами; положения сустава фиксируются, пока пальцы захватывают предмет и удерживают его. Затем требуется увеличение мощности мышц для подъема предмета, но при достаточном расслаблении, позволяющем суставам перемещаться. Эта мышечная координация зависит от целостности мозжечка, который располагается в основании головного мозга. Он получает непрерывный поток информации от быстродействующей системы обратной связи. Кроме того, мозжечок поддерживает мышечный тонус, чтобы даже в покое мышца была готова к действию. Окончательным пунктом назначения его нервных импульсов является нервно-мышечный синапс, специализированная структура на каждом мышечном волокне. Ацетилхолин, выделяемый нервными окончаниями, пересекает синапс, и мембрана мышечных клеток деполяризуется, что вызывает сокращение молекул актина и миозина и сокращение всей мышцы. Мышечная активность значительно увеличивает простые напряже-

ния на костные ткани, связанные с переносом веса. Мышцы присоединены к скелету посредством сухожилий и связок, передающих скелету мышечное сократительное движение.

Чтобы выдерживать напряжения, прилагаемые к скелету, кости, развиваясь и эволюционируя, приобрели значительную прочность и жесткость. Прочность кости на растяжение сравнима с прочностью чугуна. Длинная кость (например, кость бедра) имеет кортикальное утолщение, позволяющее противостоять деформации кручения в середине тела бедренной кости. В районе бедра усилия носят главным образом компрессионный характер, поэтому внутренняя архитектура имеет тонкие костные перекладки вдоль линий напряжений для усиления и поддержки относительно тонкого кортекса. Кости также представляют собой минеральный резерв для организма; расстройства кальциевого обмена, в частности рахит и остеомалиция, приводят к характерным нарушениям при отсутствии должного лечения.

На рис. 26 показана схема строения различных костных структур и морфология кости.

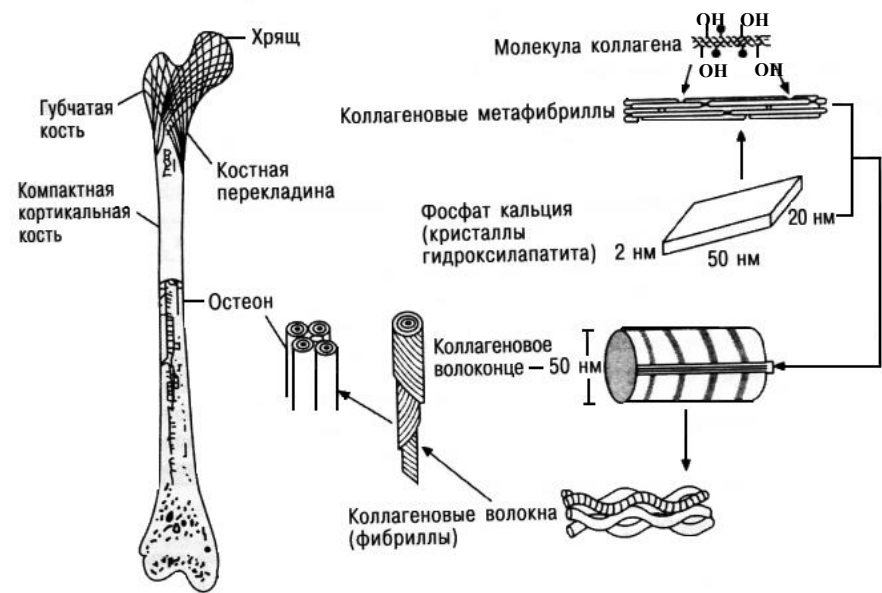


Рисунок 26 – Схема строения различных костных структур и морфология кости

7.1. Структурные компоненты кости

Кость состоит из трех основных частей:

- ❖ живые клетки (остеобласты, остеокласты и остеоциты);
- ❖ неживые органические вещества (коллаген, мукополисахариды);
- ❖ неживые неорганические кристаллы (гидроксилапатит, НСА).

Остеобласты – клетки, образующие костную ткань.

Остеокласты – клетки, разрушающие костную ткань.

Остеоциты – зрелые костные клетки, окруженные костным минералом НСА.

Коллаген – это очень прочный белок, который в основном формирует структуру скелетных соединительных тканей. Как показано в табл. 3 в организме присутствует 13 типов коллагена. Коллаген типа I – это самый важный тип коллагена в кости, потому что он может минерализоваться.

Под электронным микроскопом коллаген похож на ленточное волокно благодаря своей надмолекулярной организации, созданной из молекул коллагена и имеющей диаметр 300 нм. Тройная винтовая третичная структура коллагена придает ему высокую прочность на разрыв и высокую гибкость. Модуль Юнга (жесткость) коллагена является весьма высоким (1–2 ГПа), так же как и его прочность на разрыв, равная от 50 до 100 МПа, в зависимости от типа и методики испытания. Внутри и между волокнами коллагена типа I образуются кристаллы костного минерала посредством процесса, который называется минерализацией кости. Кристаллы представляют собой углеродистую форму гидроксилапатита (НА) и включают молекулы CaO , P_2O_5 и гидроксильную группу OH . Химическая формула НА – это $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. Кристаллы выстроены вдоль оси волокон коллагена и усиливают основу коллагена, давая очень прочный и жесткий композит.

Таблица 3 – Типы коллагена

Тип	Ткань	Полимерная форма
Класс 1 (тройная винтовая спираль 300 нм)		
Тип I	Кожа, кость и т.д.	Ленточное волокно
Тип II	Хрящ, межпозвонковый диск	Ленточное волокно
Тип III	Кожа, кровеносные сосуды	Ленточное волокно
Тип V	С типом I	Ленточное волокно
Тип XI	С типом II	Ленточное волокно
Класс 2 (базальные мембраны)		
Тип IV	Базальный слой	Трехмерная сеть
Тип VII	Эпителиальная базальная мембрана	Анкерное волокно
Тип VIII	Эндотелиальная базальная мембрана	Неизвестна
Класс 3 (короткая цепь)		
Тип VI	Широко распространенный	Микронити, ленточные агрегаты диаметром 110 нм, поперечно связанные с типом II
Тип IX	Хрящ (с типом II)	Неизвестна
Тип X	Гипертрофированный хрящ	Неизвестна
Тип XII	Сухожилие	Неизвестна
Тип XIII	Эндотелиальные клетки	Неизвестна

7.2. Микроструктурные особенности кости

Составные части кости организованы в трехмерные структуры. Несколько типов структур кости, иллюстрации которых приводятся на рис. 26, отличаются своей относительной пропорцией и организацией коллагена и минерала кости. Перепончатая губчатая кость, также называемая незрелой костью, является самой слабой, а кортикальная (трубчатая) кость (также называемая компактной) является самой прочной.

В табл. 4 показано, что решетчатая (губчатая) кость является промежуточной по свойствам. Из-за плотной структуры и укрепляющего действия кристаллов апатита кортикальная трубчатая кость имеет гораздо более высокий модуль эластичности, чем другие скелетные ткани.

Механические свойства хрящей, сухожилий и связок значительно отличаются от свойств кости, потому что они не минерализованы, и пропорции клеток, волокон, матрицы и воды у них разные.

Таблица 4 – Механические свойства скелетных тканей

Свойство	Кортикальная кость	Губчатая кость	Суставный хрящ	Сухожилие
Прочность на сжатие (МПа)	100–230	2–12	-	-
Прочность на разрыв	50–150	10–20	10–40	80–120
Натяжение до отказа	1–3	5–7	15–50	10
Модуль Юнга (на растяжение)	7–30	0,50–0,05	0,001–0,010	1
Жесткость на излом	2–12	-	-	-
Жесткость на сжатие	-	-	20–60	-
Модуль смещения при сжатии	-	-	4–15	-
Жесткость при растяжении (МПа)	-	-	50–225	-

Ориентация кристаллов апатита внутри и вдоль волокон коллагена создает структурные единицы, которые называются остеонами. Остеоны ориентированы параллельно длинной оси кости, и с ними связаны анизотропные механические свойства. Следовательно, губчатая кость имеет гораздо более низкую прочность на сжатие, более низкую прочность на растяжение и более низкий модуль эластичности, чем кортикальная кость. Рост остеонов происходит концентрическими кольцами минерализованного коллагена вокруг остеоцита.

7.3. Биомеханика кости: анизотропия свойств кости

Прочность кортикальной кости зависит от того, нагружается ли она в натяжении, сжатии или кручении. Разница связана с анизотропной, ориентированной структурой остеонов. Типичные кривые зависимости напряжения от относительного удлинения для одноосной растягивающей и сжимающей продольной нагрузки кортикальной кости человека показаны на рис. 27.

Данные свидетельствуют, что кортикальная кость прочнее при сжатии, чем при натяжении. Относительное удлинение до отказа составляет приблизительно 3 % для кортикальной кости при сжимающей нагрузке, независимо от того, приложена ли нагрузка в поперечном направлении через кость или продольно вдоль оси кости.

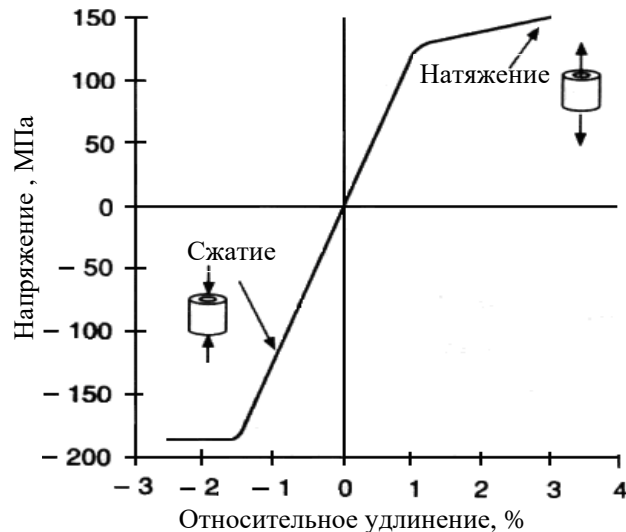


Рисунок 27 – График зависимости напряжения от относительного удлинения для кортикальной кости человека при растягивающей и сжимающей нагрузке

Однако, когда кость нагружается в поперечном направлении при натяжении, величина относительного удлинения до отказа и прочность значительно уменьшаются. Данное анизотропное поведение, по всей видимости, является структурной реакцией на условия нагрузки, возникающие на бедре при повседневных видах деятельности, в частности при ходьбе. Образцы, взятые с длинной кости и испытанные на натяжение, показывают значение

структуры для механического поведения, т.е. поперечные образцы значительно слабее и демонстрируют значительно более низкую величину относительного удлинения до отказа, чем продольные образцы.

7.4. Влияние возраста и скорости натяжения на кость, усталостное разрушение кости

Известно, что с возрастом теряется 50 % костной массы у мужчин и 60 % у женщин и происходят значительные структурные изменения длинных костей. Уменьшение плотности кости значительно уменьшает прочность губчатой кости.

Если сравнить микроавтографы губчатой кости здоровой 30-летней женщины и 60-летней женщины, страдающей остеопорозом, то станет очевидным то, что во втором случае почти половина костных перегородок утрачена и что они все значительно тоньше в кости, пораженной остеопорозом. Следствием уменьшения плотности губчатой кости в шейке бедра является перелом головки бедра. Следствием остеопороза и уменьшения толщины кортикальной кости является перелом длинных костей. Остеопороз может оказывать серьезное влияние на плотность губчатой кости позвонков. Клиническим следствием является позвоночный коллапс.

Благодаря свойствам коллагена и его композитной структуре *кость является вязкоэластичным материалом*. Следовательно, и модуль эластичности, и прочность кости значительно изменяются в зависимости от скорости натяжения при нагрузке. При очень медленных скоростях нагрузки кость имеет меньшую прочность. Быстрая ударная нагрузка увеличивает величину напряжения до отказа в три раза и уменьшает величину относительного удлинения до отказа приблизительно вдвое. Модуль эластичности увеличивается при увеличении скорости натяжения. Сравнение изменений скорости натяжения для модуля и предела прочности при растяжении кортикальной кости человека при продольной нагрузке показывает, что на протяжении всего диапазона скоростей натяжения прочность увеличивается приблизительно втрое, а модуль – вдвое.

Модуль эластичности ухудшается в зависимости от усталостной нагрузки. Энергичная активность может уменьшить усталость в 100 раз. Так же как и в случае смещения, сопротивление усталостному разлому больше в

случае зажимной нагрузки. *Предел усталости* – это напряжение, ниже которого не будет циклической усталости материала.

Перелом кости. Существует девять главных групп перелома. Энергия, необходимая для перелома кости, является весьма значительной. Как и следовало ожидать, при возрастных структурных изменениях в кости энергия, необходимая для перелома кости, уменьшается в два-три раза.

7.5. Структура сухожилий и связок

Сухожилия и связки – это мягкие соединительные ткани, соединяющие кости, кости и мышцы или поддерживающие внутренние органы.

Структура сухожилий и связок – это структура композитного материала, состоящего из волокон коллагена, вложенных во внеклеточный матрикс, включающий протеогликан и эластин. Как показано на рис. 28, фибробласты являются преобладающим типом клетки и расположены параллельными рядами между направленными вдоль оси пучками коллагена типа II.



Рисунок 28 – Схематическое изображение структуры сухожилий и связок

Относительная доля коллагена типа II в сухожилии составляет 86 % (сухого веса), в то время как в случае связок эта доля меньше – 70 % (сухого веса).

Продольные пучки коллагеновых волокон в сухожилии связаны друг с другом гликопротеинами и водой и образуют фасции. Свободная мембрана из соединительной ткани, называемая мембраной фасции или эндотеноном, разделяет фасции. Мембрана допускает продольное перемещение и поддерживает кровеносные сосуды, лимфатическую систему и нервы. Связки содержат меньше коллагена, который имеет произвольное строение, по сравнению с сухожилиями.

Хотя в связке поток крови ограничен, он является достаточным для питания фибробластов и поддержания синтеза и восстановления матрикса. Повреждение капилляров в результате нарушения контакта связки с костью часто приводит к разрыву связок, что является распространенной спортивной травмой. Кровоснабжение некоторых сухожилий обеспечивают многочисленные мелкие капилляры, пронизывающие паратеноновый (рыхлая ткань, окружающая сухожилие) или мезотеноновый слой, который называется бессосудистым сухожилием; питание фибробластов поступает из синовиальной жидкости путем диффузии. Регенерация поврежденного бессосудистого сухожилия затруднена из-за ограниченности доступа для макрофагов и слабого деления клеток.

Механическое поведение сухожилий и связок. Сухожилия – это анизотропные композитные материалы; связки имеют несколько меньшую степень анизотропии. Продольная ориентация коллагеновых волокон вдоль направления сил растяжения обеспечивает очень высокую прочность сухожилий на растяжение. Как показано на рис. 29, корреляция между напряжением – относительным удлинением, нагрузкой – деформацией сухожилий, связок и кожи является аналогичной.



Рисунок 29 – Типичные графики зависимости напряжения от относительного удлинения для сухожилий и связок

При низких уровнях напряжения сухожилия и связки легко растягиваются (натягиваются). Это называется пиком графика зависимости напряжения от относительного удлинения и связано с выпрямлением складчатых коллагеновых волокон и ориентацией волокон по направлению приложенной нагрузки. При более высоких значениях напряжения ориентированные волокна коллагена реагируют линейностью уровня относительного удлинения. Наклонный характер линейной области представляет собой модуль эластичности сухожилия или связки. Значения модулей эластичности для сухожилий человека находятся в пределах от 1,2 до 1,8 ГПа.

Как показано на рис. 30, деформация сухожилий или связок, нагружаемых в соответствующей им линейной области, обычно бывает обратимой, хотя цикл приложения нагрузки запаздывает.

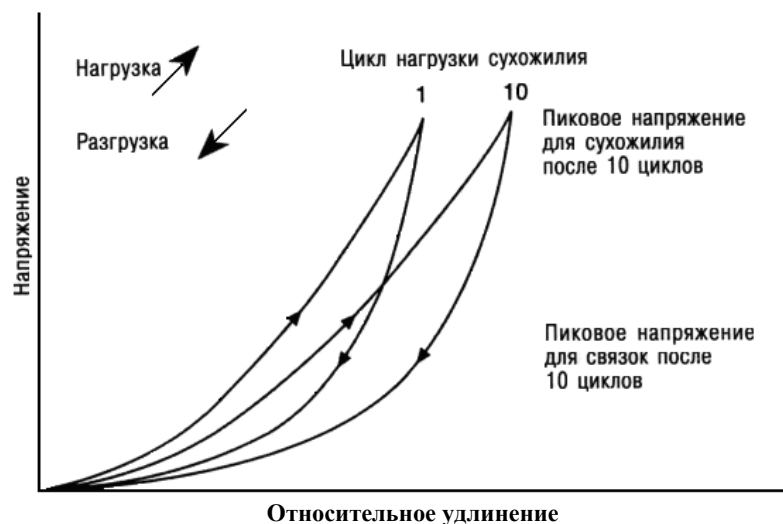


Рисунок 30 – Воздействие циклической нагрузки на поведение напряжения – относительное удлинение сухожилия

Область между кривыми нагрузки – разгрузки представляет собой потерю энергии в ткани. Эта потеря незначительная и составляет всего лишь около 4–10 % на один цикл. Повторяющаяся циклическая нагрузка и разгрузка постепенно перемещает соотношение напряжения – относительного удли-

нения в область прогрессивно растущих значений относительного удлинения при меньших значениях нагрузки, т.е. наблюдается явление, которое называется *текучестью*. Уменьшение жесткости сухожилий позволяет им постепенно удлиняться под действием циклической нагрузки и сокращает скорость мышечной усталости для комплекса сухожилия – мышцы. После приблизительно 10 циклов реакция напряжения – относительного удлинения сухожилия обычно становится повторяемой и стабильной. В отличие от этого, циклическая нагрузка связок ведет к прогрессивному уменьшению пикового напряжения. После большего числа циклов структура связки и механическая реакция стабилизируются.

Если продолжать увеличивать напряжение, приложенное к сухожилиям и связкам, то это приведет к необратимым изменениям на стыке между коллагеновыми волокнами в структуре. Происходит постоянное растяжение, как это представлено областью текучести на графике напряжения – относительное удлинение (см. рис. 29). Таким образом, сухожилие или связка могут растягиваться в два-три раза больше при определенном значении нагрузки в области текучести по сравнению с областью линейности.

Разрыв связей коллаген – коллаген или коллаген – эластин ведет к разрыву и разрушению сухожилия или связки, область разрушения показана на рис. 29. Максимальное напряжение или предельная прочность человеческих сухожилий при растяжении находится в пределах от 45 до 125 МПа. Предельное натяжение до разрушения сухожилий человека составляет от 9 до 35 %. Связки имеют аналогичные механические свойства.

Большая изменчивость биомеханических свойств сухожилий и связок объясняется многочисленными факторами, включая анатомическое расположение, степень активности (тренированности), скорость прилагаемого натяжения и в особенности возраст.

7.6. Хрящ

Хрящ – это также мягкая соединительная ткань с важными структурными функциями. В организме человека имеется три типа хрящей:

- ✓ эластичный хрящ (ухо и нос);
- ✓ фиброзный хрящ (межпозвонковое пространство);
- ✓ суставной хрящ (на суставных концах костей, образующих синовиальные суставы).

Суставный хрящ является в особенности важным, потому что он защищает лежащую в его основе кость в суставе от трения и износа. Слоистая композитная структура суставного хряща вместе с его смазкой, производимой синовиальной жидкостью, имеет низкий коэффициент трения. Повреждение суставного хряща, в частности в результате травмы или остеоартрита, подвергает лежащую в его основе кость концентрациям напряжений и приводит к боли, передаваемой нервами в кости. Хрящ нервов не содержит. Регенерация хряща затруднена из-за низкого содержания клеток и отсутствия кровоснабжения. Питание клеток поступает с питательными веществами в синовиальной жидкости, которые диффундируют через воду в составе хрящей.

В структурные особенности суставного хряща входят клетки, которые называются *хондроциты*. Они заключены в обширный внеклеточный матрикс, состоящий из:

- коллагеновых волокон (главным образом коллагена типа II с незначительными количествами коллагена типа VI, IX, X, XI, XIV);
- протеогликанов (сульфат хондроитина, сульфат кератана и гиалуронан);
- больших количеств (65–80 %) внутренней воды, связанной с коллагеновой сеткой;
- протеогликановых доменов.

Хондроциты отличаются по форме и функции в зависимости от их расстояния от поверхности сустава. Рядом с поверхностью сустава клетки становятся плоскими и выстраиваются параллельно поверхности (поверхностная зона). В переходной зоне клетки имеют эллипсоидную форму и ориентированы под углом к поверхности сустава. Третий слой, называемый глубокой зоной или зоной деления, содержит группы из 4–8 сферических клеток, способных делиться и расположенных в виде столбцов, перпендикулярных поверхности. Ниже находится кальцифицированная зона, являющаяся переходом к кальцифицированному хрящу и лежащей в его основе кости. Активный синтез в клетках, необходимый для сохранения структуры и функций суставного хряща, происходит в основном в переходной и глубокой зонах.

Уникальные вязкоэластичные механические свойства хряща связаны с физико-химическим взаимодействием внеклеточных компонентов. Существует равновесие между осмотическим давлением набухания заполненного

водой протеогликанового геля с высоким молекулярным весом и гидростатическим давлением, вызванным растягивающими напряжениями в сетке коллагеновых сшитых волокон. Когда хрящ подвергается нагрузке при сжатии, приложенное гидростатическое давление создает чистый перепад давления, заставляющий внутреннюю жидкость покидать область, находящуюся под нагрузкой.

Силы, передаваемые через подвергаемые нагрузке суставы, главным образом носят сжимающий характер. Суставный хрящ имеет низкие трениевые свойства и отсюда нагружается главным образом при сжатии перпендикулярно суставной поверхности. При этих условиях коллагеновые волокна в хряще испытывают растягивающее усилие. Коллагеновые волокна ориентированы параллельно поверхности в поверхностной зоне и перпендикулярно поверхности сустава в более глубокой зоне. Изменениям в ориентации волокон в зависимости от напряжения противостоит сшитый протеогликановый гель и внутренняя вода, что является причиной вязкоэластичного поведения хряща.

Возраст и остеоартрит приводят к истиранию суставного хряща на поверхности кости. В поверхностной зоне появляются небольшие трещины, обнажающие и расстраивающие ориентированные коллагеновые волокна. Это явление носит название *фибрилляции*. Содержание воды и жесткость хряща уменьшаются, возникает микроразрушение, что в конечном счете приводит к обнажению кости, болям и ухудшению смазочных характеристик сустава.

Уникальные механические свойства кости, сухожилий, связок и хряща отражают высокоанизотропную ориентацию клеток, внеклеточного матрикса и воды в этих соединительных тканях, так же как и снабжение питательными веществами. Возраст, травмы и заболевания ухудшают структурные составляющие и снабжение питательными веществами скелетных мышц и часто приводят к необходимости имплантатов для восстановления функций.

8. Сердечно-сосудистая система

Кровообращение обеспечивает все жизненно важные функции организма: доставляет тканям все необходимые им питательные вещества, включая кислород; способствует удалению продуктов обмена; осуществляет контроль за содержанием жидкости в организме, контроль многочисленных функций через эндокринную систему и терморегуляцию.

Три главных компонента сердечно-сосудистой системы – это кровь, кровеносные сосуды и сердце.

Кровь – это жидкость, которая находится в постоянном движении по всем тканям организма, а *кровеносные сосуды* – это пути, при этом *сердце* – мышечный насос, в первую очередь отвечающий за приведение потока крови в движение.

Кровь. Кровь – это суспензия клеток в жидкости, которая называется плазмой. Клетки – это главным образом эритроциты (красные кровяные тельца), выполняющие функцию переноса газа. Плазма содержит белки, ионы, питательные вещества, метаболиты, продукты обмена веществ и сигнальные химические вещества. Именно перемещение крови в организме обеспечивает эффективность транспортировки материалов и тепла для всех тканей. Другой главной функцией крови является защитная функция, которая вступает в силу, когда организм травмирован или инфицирован патогенными микроорганизмами. Кроме эритроцитов, другими клеточными компонентами являются лимфоциты, лейкоциты и тромбоциты. Лейкоциты и лимфоциты участвуют в воспалительных и иммунных процессах, а тромбоциты участвуют в формировании тромбов, когда кровеносные сосуды повреждены.

Типы кровеносных сосудов. Кровеносные сосуды постепенно изменяются по размерам и свойствам по всей системе. *Идущие от сердца артерии большого диаметра, жесткие и эластичные*, но они становятся уже и жестче по мере того, как ответвляются от центра. Их главным компонентом является эластин, который представляет собой белок, придающий эластичность, и гладкая мышца, которая также является эластичной, но может сокращаться. *Артерии переходят в артериолы.* Их сократительные свойства важны для контролирования потока крови к органам, которые они снабжают, и для обеспечения сопротивления, против которого бьющееся сердце может создать соответствующее давление для подачи крови ко всем частям организма.

Капилляры – это самые маленькие кровеносные сосуды, которые, как правило, имеют диаметр приблизительно 5 мкм, что меньше диаметра клеток крови, которые вынуждены проходить через стенки сосудов. Стенки капилляров имеют толщину, равную всего лишь одной клетке, обеспечивая оптимальный обмен между кровью и тканями, через которые они проникают. Плотность капилляров разная в разных тканях, но всегда очень высокая, поэтому материалы перемещаются самое большее на несколько десятков микрон. *Из капилляров кровь сливается в венулы и вены* увеличивающегося размера и, в конечном счете, возвращается в сердце. Вены имеют более тонкие стенки, чем артерии, поскольку кровь в них обычно имеет значительно более низкое давление. Многие вены имеют серповидные односторонние клапаны, предотвращающие обратный поток. Поток крови значительно замедляется в артериях и микрососудах, а затем ускоряется по мере того, как объединяется в один поток в венозной системе. Результирующие колебания скорости крови обеспечивают быстрое движение по организму, но также оставляют достаточно времени для того, чтобы кровь находилась в капиллярах, обеспечивая приблизительное уравнивание концентраций газов, метаболитов и продуктов обмена с окружающими тканями. Во всех системах, кроме системы кровообращения плода, система малого круга кровообращения работает параллельно с общей сердечно-сосудистой системой, чтобы вся кровь подвергалась газообмену в легких, в то время как общее кровообращение подает кровь всем другим тканям в организме.

Сердце. Сердце – это четырехкамерный орган, состоящий главным образом из специализированных ритмично сокращающихся мышечных волокон. Сокращение инициируется деполяризацией клеток в области водителя ритма, за которой следует передача электрических потенциалов действия через проводящие волокна вначале в предсердия, а затем в оба желудочка. Сокращение камер повышает давление крови в них, направляя ее через односторонние клапаны в аорту, большую артерию. Эти клапаны вместе с клапанами в венах отвечают за однонаправленный поток крови в круге кровообращения. Сердце получает свое собственное венозное кровообращение, которое начинается у основания аорты. В крови коронарной артерии содержится больше кислорода, чем в артериях, снабжающих большинство других органов, поэтому любое патологическое изменение внутри нее имеет очень негативные последствия.

8.1. Сердечно-сосудистая патология

Отказ любой из составляющих частей сердечно-сосудистой системы может иметь катастрофические последствия. Остановка нормального потока крови к мозгу менее чем на минуту приводит к потере сознания и, если это продолжается в течение нескольких минут, вызывает необратимые повреждения и смерть. Другие органы более терпимы к временному прекращению потока крови (ишемия), но во всех случаях будет иметь место усиливающаяся дисфункция с последующим некрозом (гибелью тканей). Даже относительно короткие прерывания потока могут приводить к негативным реакциям при возобновлении потока (реперфузии).

На заболевания сердечно-сосудистой системы по-прежнему приходится более 40 % всех случаев смерти в странах с развитой экономикой. На рис. 31 показана диаграмма смертности на миллион населения в Англии и Уэльсе.

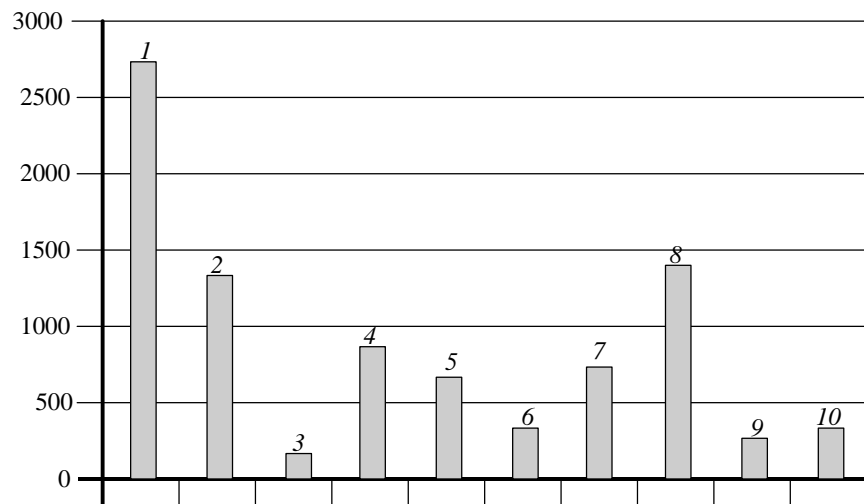


Рисунок 31 – Диаграмма смертности на миллион населения в Англии и Уэльсе: 1 – коронарная болезнь сердца; 2 – инсульт; 3 – прочие сердечно-сосудистые заболевания; 4 – рак легкого; 5 – рак желудка и толстой кишки; 6 – рак молочной железы; 7 – прочие виды рака; 8 – респираторные заболевания; 9 – травмы; 10 – прочие

Самые распространенные проявления (в процентном отношении) сердечно-сосудистых заболеваний показаны на рис. 32.

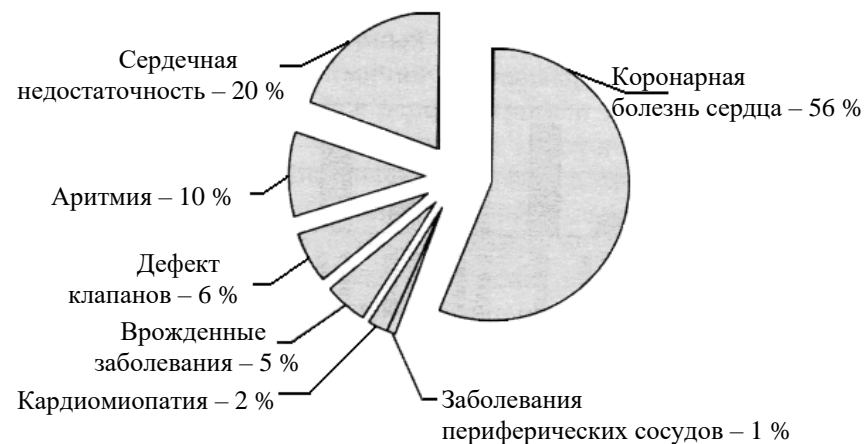


Рисунок 32 – Наиболее распространенные сердечно-сосудистые заболевания

Коронарная болезнь сердца – это самое распространенное заболевание, вызывающее большее количество смертей и более продолжительные недуги, чем какое-либо другое заболевание. В его основе лежит атеросклероз. Это заболевание развивается на очень раннем этапе детства человека, затем регрессирует, перед тем как снова дать всплеск после достижения человеком зрелого возраста. Это связано с оседанием, в частности, жиров, клеточного мусора и соединительных тканей на внутренней стенке кровеносных сосудов, в особенности на стенках артерий среднего размера. Предрасположенность к заболеванию конкретного человека зависит от различных факторов риска, включая генетику, питание, артериальное давление, курение и тренированность. При прогрессировании данного состояния может произойти одно из двух серьезных последствий. Либо атеросклеротическая бляшка может увеличиться в размере, перекрыв кровеносный сосуд и препятствуя потоку крови мимо бляшки (стеноз), либо бляшка может разорваться под действием гемодинамических сил, действующих на стенки сосуда. Содержимое разо-

рвавшегося стеноза может привести к образованию эмбол, которые перекроют сосуды. Это является частой причиной, вызывающей сердечный приступ. Так же кровяные сгустки могут образовываться на поврежденной ткани и локально, либо по направлению движения крови, блокировать сосуд. Коронарная болезнь сердца – это ишемическое состояние сердечной мышцы, являющееся результатом любого из этих процессов. Следствием может быть боль или в худшем случае прекращение насосной функции (инфаркт миокарда).

Поскольку атеросклероз является преобладающим, многие из состояний, указанных на рис. 32, могут присутствовать одновременно. Болезнь периферических сосудов без воздействия на коронарные сосуды случается очень редко.

8.2. Контроль и лечение сердечно-сосудистых патологий

В случае некоторых сердечно-сосудистых патологий имеется возможность использовать фармакологическую или хирургическую терапию в целях получения идеально функционирующей системы. Например, около 50 лет назад стало возможным делать операции по вскрытию грудной клетки для исправления врожденных дисфункций сердца (например, уменьшение открытых отверстий между камерами, не заросших при рождении). В последнее время стало возможным лечить более сложные врожденные пороки, включая измененные магистральные сосуды или отсутствующие камеры сердца. За последние 20 лет появилась возможность использовать препараты для контроля гипертонии, которая ранее приводила к очень серьезным осложнениям, в частности к сердечной недостаточности. В настоящее время все чаще применяются приемы имплантации для замены поврежденных или пораженных элементов или для облегчения работы сердечно-сосудистой системы.

Замена крови. До недавнего времени переливание иммунологически совместимой крови из банков крови было нормальной процедурой устранения острой потери крови. Поиск новых материалов для замены крови первоначально возник из-за недоступности донорской крови в военное время, а в последнее время усилился в связи с увеличением числа таких заболеваний, как гепатит и синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Параметр

крови, соответствие которого наиболее важно сохранить в искусственных заменителях крови, – это ее способность переносить кислород. Следовательно, самым успешным подходом к решению этой проблемы пока является использование жидкостной суспензии, а именно полностью фторированных углеводородов (кислород имеет необычно высокую растворимость), а также растворов или суспензий производных гемоглобина.

Имплантаты при лечении сердечно-сосудистой патологии. Такие устройства, как кардиостимуляторы, могут способствовать кровообращению, при этом не соприкасаясь с кровью внутри кардиостимулятора. Большинство имплантатов должны не только удовлетворять условиям биосовместимости, действующим в других частях организма, но также минимизировать нарушения, связанные со свертываемостью крови.

Свертываемость крови – это чрезвычайно точно сбалансированный процесс, способный вызвать очень быстрый гемостаз при повреждении сосудов и настроенный таким образом, чтобы не допустить самопроизвольного роста тромба внутри сосудов, приводящего к блокированию потока крови. Существует два дублирующихся каскадных механизма свертываемости: наружный путь, зависящий от тканевых факторов, приводимый в действие поврежденными клетками; и внутренний путь, обычно запускаемый при контакте тромбоцитов с аномальными поверхностями. Выбор имплантируемых материалов в значительной степени зависит от их нетромбогенности, а также от других факторов, в частности химической инертности этих материалов.

Кровь, кровеносные сосуды и сердце являются частями сердечно-сосудистой системы, играющей существенную роль в обеспечении жизни организма, поскольку клетки крови и плазма доставляют питание и удаляют продукты обмена веществ из клеток организма.

Отказ любых элементов системы может привести к необратимому повреждению клеток и органов и является одной из главных причин смерти. Таким образом, восстановление и замена компонентов сердечно-сосудистой системы являются одними из важнейших проблем производства биоматериалов и биоинжиниринга.

9. Биомедицинские полимеры

Биосовместимые полимеры (полимеры, которые не являются токсичными для организма после имплантации), можно классифицировать как *биоинертные* и *биорассасывающиеся*. Как правило, биосовместимые полимеры с высоким молекулярным весом являются неразрушаемыми и классифицируются как биоинертные. Токсичность может возникать и в случае нормально биосовместимых полимеров из-за выщелачивания пластификаторов и присадок с низким молекулярным весом. То, что продается в качестве полимера X одним производителем, может очень сильно отличаться от полимера X, продаваемого другим производителем, в силу чистоты и присутствия присадок. Поверхностные реакции и поглощение полимеров у поверхности полимера могут также служить причиной возникающих проблем. Поэтому большое значение имеет текстура поверхности и форма имплантата.

9.1. Биоинертные полимеры

Распространенными неразрушаемыми медицинскими полимерами являются:

- ❖ полиметилметакрилат (PMMA);
- ❖ политетрафторэтилен (PTFE);
- ❖ полиэтилен (PE);
- ❖ полисилоксан (силикон);
- ❖ полисилоксановый эластомер;
- ❖ полисилоксановый гель;
- ❖ полисилоксановый клей;
- ❖ полиамид (нейлон);
- ❖ полиэтилентерефталат (PET);
- ❖ полиуретан (PU).

Следует отметить, что существует определенное свидетельство ферментного распада PET, нейлона и PU. Однако степень распада, как правило, очень небольшая, при этом исключение представляют некоторые типы полиуретанов.

Полиметилметакрилат (PMMA). Полиметилметакрилат – это твердый, жесткий, стеклообразный, но хрупкий полимер с температурой стеклования, равной приблизительно 100 °С. Химическая структура полиметилметакрилата показана на рис. 33. Он классифицируется как биоинертный. В затвердевших формах он используется в качестве внутриглазных линз и твердых контактных линз. Формы отвердевания *in situ* (известные как холодное отвердевание) используются в качестве костных цементов в хирургии при замене суставов.

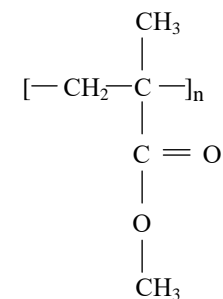


Рисунок 33 – Химическая структура полиметилметакрилата

Однако данный материал не является идеальным в качестве костного цемента. Полимеризация сопровождается сильным нагревом – свыше 90 °С, что может привести к термическому некрозу кости во время полной замены сустава.

Политетрафторэтилен (PTFE). Политетрафторэтилен имеет химическую структуру: $[\text{—CF}_2\text{—CF}]_n$. С химической точки зрения он является крайне стабильным и представляет собой пример биоинертного полимера. Следует отметить, что все коммерческие PTFE только приближаются к приведенному выше химическому составу. PTFE является высококристаллическим, и кристаллиты имеют высокую точку плавления (330 °С), в результате чего PTFE труден для обработки. Ему нельзя придать какую-либо форму. Частицы спекаются, а затем подвергаются механической обработке до необходимой формы. PTFE имеет относительно слабые механические свойства с низким пределом текучести, что ограничивает его использование. Политетрафторэтилен используется как часть сосудистого протеза. Коммерческий материал

Gortex™ представляет собой волокнистую листовую форму PTFE, имеющую многочисленные сферы применения в качестве мембранного материала.

Полиэтилен (PE). В биомедицинских сферах используются три типа полиэтилена:

- полиэтилен низкой плотности LDPE (более низкая степень кристалличности);
- полиэтилен высокой плотности HDPE (более высокая степень кристалличности);
- полиэтилен ультравысокого молекулярного веса UHMWPE (молярная масса $> 10^6$).

Для большинства конструкторских сфер применения PE имеет слишком низкий предел текучести. Предел текучести увеличивается с молекулярным весом и степенью кристалличности. UHMWPE применяется в качестве несущей поверхности, в качестве вертлужного компонента при полной замене бедра и используется только в ортопедии. LDPE и HDPE легко поддаются формованию. UHMWPE не поддается формованию и, так же как и PTFE, спекается и механически обрабатывается до получения определенной формы. Полиэтилен, так же как и PTFE, является гидрофобным и биоинертным полимером. Однако в то время как полиэтилен классифицируется как биоинертный, частицы UHMWPE в диапазоне микронных размеров, возникающие в результате износа вертлужных впадин, являются очень токсичными и вызывают некроз кости и остеолитические поражения, являющиеся основным фактором асептического разрушения бедренных суставов.

Полисилоксан (силикон). Полисилоксаны широко используются для медицинских целей и имеют многолетнюю хорошую репутацию. Полисилоксаны являются химически очень стабильными и неактивными. Они имеют низкое влагопоглощение и являются гидроотталкивающими, а также обладают хорошими характеристиками по электроизоляции. Полисилоксаны – это именно те полимеры, когда необходим эластомер и когда имеется потребность в биодолговечности и биосовместимости.

Почти все полисилоксаны основаны на полиметилсилоксане. Отсутствие каких-либо полярных групп в структуре приводит к получению сильно гидрофобного полимера с плохими смачивающими характеристиками. Полиметилсилоксан редко используется без модификации.

Полисилоксановый эластомер. Полисилоксановые эластомеры состоят из сшиваемого модифицированного полисилаксина высокой молярной массы ($> 3,5 \times 10^5$), армирующего наполнителя и каталитической системы для инициации сшивания. Эти материалы текут легко только под давлением и производятся посредством технологий, в частности таких, как прямое (компрессионное) формование, литьевое прессование, каландрование и экструзия. Марки с низким молекулярным весом ($< 10^5$) могут изготавливаться путем формования погружением в раствор и реактивным формованием в пресс-формы. Системы вулканизации / сшивания могут включать перекись бензоила, платиновые катализаторы и системы отверждения во влажной среде при комнатной температуре.

Полисилоксановый гель. Эти вещества аналогичны эластомерам, но не содержат наполнителя и, как правило, в основе своей имеют очень легко сшитый полиметилсилоксан низкой молярной массы. Они используются в имплантатах молочной железы. Существуют некоторые проблемы с несшитыми цепочками с низкой молярной массой и примесями, приводящие к «вытеканию», когда силоксаны низкой молярной массы проникают в оболочку посредством осмотической диффузии. К использованию они не рекомендуются, кроме случаев, когда есть непроницаемая оболочка.

Полисилоксановый клей. Существует два основных типа полисилоксанового клея:

➤ клей, который затвердевает и сшивается при соприкосновении с водой (например, медицинский клей Silastic® типа А). Этот тип содержит ацетоксигланд, реагирующий с водой и образующий связи (сшивки) кремний – кислород – кремний и уксусную кислоту;

➤ клей, склеивающее действие которого основано только на свойственной ему «клейкости» (например, Dow Corning® 355). Этот тип содержится в растворителе фторированного углеводорода. Он может применяться для прикрепления материалов к коже, в частности таких, как металлы, бумага, стекло, ткань, полисилоксан и эластомеры. Если он используется в течение продолжительного периода времени, то его склеивающие свойства в отношении полисилоксанов ухудшаются, поскольку растворитель диффундирует в полисилоксан.

Полиамид (нейлон). Нейлоны имеют в своей основе полимеры, содержащие связь (– CONH –). Основные типы, применяемые в медицине, имеют в основе Нейлон 6, Нейлон 6,6 и Нейлон 6,12, где цифрами указывается количество атомов углерода, разделяющее амидные связи. Как волокна, так и отливки являются частично кристаллическими, и степень этой кристалличности оказывает влияние на их свойства. Нейлоны являются относительно гидрофобными, и амидная связь может образовывать водородные связи с молекулами воды в аморфных областях, приводя к значительному водопоглощению. Водопоглощение приводит, в свою очередь, к пластификации и к заметному изменению механических свойств.

Полиэтилентерефталат (PET). Полиэтилентерефталат имеет структуру, приведенную на рис. 34. PET является более гидрофобным, чем нейлоны. Поглощение белков и тромбогенность (образование сгустков крови) увеличивается с ростом гидрофобности. По этой причине PET более эффективен для соприкасающихся с кровью устройств, чем полиамиды, а также потому, что полиамиды склонны к разрушению.

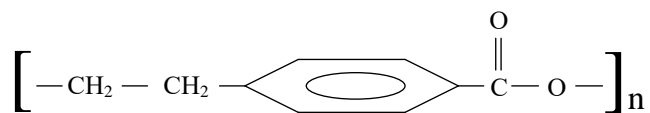


Рисунок 34 – Химическая структура полиэтилентерефталата

Коммерческий материал Dacron® имеет в своей основе аморфные волокна PET. Полиэтилентерефталат часто используется в виде тканых или вязаных трубок (для соприкасающихся с кровью устройств). Плотные связанные формы обеспечивают максимальный охват клеток, в то время как свободная сеть не поддерживает рост тканей.

Полиуретан (PU). Полиуретаны – это полимеры, содержащие уретановую группу. Существует большое число уретановых полимеров с самыми различными физическими и биологическими свойствами. Уретановые группы образуются в результате реакции изоцианата и спирта.

На ранних этапах использования полиуретанов после имплантации наблюдались острые реакции. Большинство исследований проводилось с использованием коммерческих продуктов, а не хорошо описанных материалов.

Наблюдавшиеся реакции, как считается в настоящее время, были связаны с гидролизом в среде живого организма сложного эфира сложных полиэфиров-уретанов. Также возникали проблемы, связанные с отторжением имплантатов молочной железы, покрытых сложными полиэфирами-полиуретанами из-за распада уретана. Простые полиэфиры-уретаны с различной жесткостью сегментов в макромолекуле являются более предпочтительными благодаря своей большей стабильности и неподверженности гидролизу. Среди коммерческих примеров можно упомянуть Biomer®, Pellethane® и Tecoflex®. Простые полиэфиры-уретаны обладают хорошей гемосовместимостью и являются одним из предпочтительных типов полимеров для соприкасающихся с кровью устройств.

9.2. Биорассасывающиеся полимеры

Когда некоторые полимеры подвергаются действию жидкостей, в частности жидкостей организма, они могут разбухать или растворяться. Маленькие молекулы жидкости могут диффундировать в полимер, раздвигая цепи и увеличивая объем. Это может возникать главным образом в местах трещин на поверхности, приводя к созданию локального растягивающего напряжения, что в свою очередь вызывает образование микротрещин или растрескивание под действием напряжений окружающей среды. Растворение можно рассматривать в качестве крайнего случая вышеуказанного.

Разрушение по данному пути сокращается посредством сшивания, увеличения молярной массы, увеличения степени кристалличности и уменьшения температуры.

Биорезорбируемый полимер должен разрушаться в организме после выполнения своей функции. Полезные материалы часто разрушаются, образуя нормальные метаболиты организма. Примерами этого являются: полилактид, полигликолид, поли-3-гидроксилбутират, сложные эфиры полигалактуроновой кислоты, полидиоксанон и сополимеры вышеуказанных веществ, плюс дополнительные виды, в частности такие, как полигликолевая кислота или полимолочная кислота и полигликолид-триметилен карбонат.

Биораспадающиеся или гидролизуемые полимеры часто являются основой каркасов для инжиниринга тканей. Инжиниринг тканей – это выра-

щивание тканей *in vitro*, часто путем посева клеток на шаблон (каркас), который направляет рост тканей.

Полимеры, производимые посредством конденсации, которая является реакцией с водой, склонны к гидролизу. Кроме того, полимеры могут содержать побочные группы, способные к гидролизу. Скорость гидролиза зависит от водопоглощения полимера и часто ограничивается диффузией воды по полимеру. Диффузия воды в полимерах часто соотносится с их растворимостью, с температурой стеклования и со степенью кристалличности.

Полигликолид (PGA). Полигликолид широко используется для распадающихся швов. Имплантаты изготавливались как из полигликолидов, так и из полилактидов. Оба полимера являются сложными полиэфирами и содержат эфирную группу в главной цепи полимера, гидролиз которой приводит к разрыву цепи. Продукты распада этих двух полимеров – гликолевая кислота и молочная кислота соответственно (обе встречаются в естественном виде в организме).

Полигликолид с высоким молекулярным весом – это твердый, жесткий кристаллический полимер, плавящийся приблизительно при 228 °С, при этом температура стеклования составляет 37 °С. PGA высокого молекулярного веса производится посредством дегидрации оксисукусной кислоты и гликолевой кислоты для получения гликолида, являющегося продуктом циклической димерной конденсации. Молярная масса полимера зависит от температуры, времени, концентрации катализатора, а также концентрации любых реагентов передачи цепи. Полимер прядется в волокна, которые затем скручиваются вместе, образуя нить для хирургических швов.

Полилактид. Полилактиды имеют в своей основе $[-O-CO-CHR]_n$, где R = CH₃. Наличие R = CH₃ дает в результате хиральный центр и образует формы D и L, а также рацемические формы, где имеет место произвольное расположение хиральных центров. Формы D и L могут кристаллизоваться, в то время как рацемическая форма кристаллизоваться не может. Степень кристалличности влияет на прочность, вязкость при разрушении и поведение разрушения. Кристаллические области не поглощают много воды и значительно устойчивее к разрушению. Кристаллические формы могут образовывать кристаллиты, остающиеся после разрушения, что приводит к формированию частиц и к токсической реакции.

Сферы применения полилактидов включают костные пробки, винты и пластины для фиксации перелома. Сферы применения ограничены в результате быстрого уменьшения прочности.

Поли-3-гидроксибутират (PHB). Поли-3-гидроксибутират – пример потенциала биотехнологии для производства новых материалов и преимуществ биологического синтеза. Он обладает многими свойствами, которые являются привлекательными для биомедицинских сфер применения. На рис. 35 показана структура PHB. Присутствие хирального центра обозначается «звездочкой». Поскольку PHB производится бактериями, имеет место только одна оптически-активная форма, и конфигурация является абсолютно идеальной. Это приводит к тому, что PHB может быть получен со степенью кристалличности более 95 %.

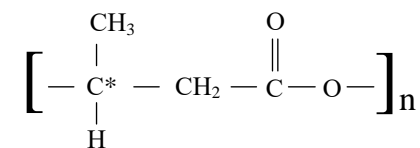


Рисунок 35 – Химическая структура поли-3-гидроксибутирата

Подобно полигликолиду, PHB разрушается посредством гидролиза, но одно из его основных свойств состоит в том, что он аналогичен PET по механическим свойствам. Он имеет температуру стеклования, равную приблизительно 10 °С, однако менее гидрофобный, чем PET, и поэтому его водопоглощение выше. PHB не только может распадаться в организме, но также разрушается в почве (способствуют почвенные бактерии), что делает его привлекательным в качестве разрушаемого упаковочного материала. Продуктом распада является оксимасляная кислота, которая, как гликолевая кислота и молочная кислота, является нормальным метаболитом, встречающимся в организме. Однако PHB распадается слишком медленно, главным образом в результате своей высокой кристалличности, которая препятствует диффузии воды в полимер. Этот факт критичен для многих биомедицинских сфер применения.

Гиалуроновая кислота. Гиалуроновая кислота – это важный биополимер, заполняющий пробел между синтетическими и природными полимерами, т.е. пробел между биохимией и химией синтетических полимеров. Ги-

луоновая кислота – это также пример коммерчески полезного биополимера со многими существующими и потенциальными случаями применения в качестве биомедицинского материала. Это важный внеклеточный биологический; он играет основную роль в регулировании среды, в которой существуют многие клетки. Став полисахаридом, он не будет иметь постоянный молекулярный вес, и его структура не будет определяться генетическим кодом. Более того, поскольку это полисахарид, он не вызывает иммунной реакции.

Гиалуроновая кислота является полностью биораспадающимся *in vivo* полисахаридом, что делает его подходящим в качестве матрикса для управляемой доставки препарата или в качестве матрикса для гибридных имплантатов, состоящих из живых клеток в гидрогелевом матриксе. Это также подходящий материал для непрелипающих бинтов для ран. Важно отметить, что большинство клеток не существует в кристаллических матрицах или свободном растворе, а существует в гидрогелях, Самый распространенный гидрогель основан на гиалуроновой кислоте.

Гиалуроновая кислота является также неотъемлемой частью внутриглазной жидкости и синовиальной жидкости суставов, где она обеспечивает реологический контроль и служит в качестве вязкоэластичной амортизирующей среды. Она контролирует содержание воды во внеклеточной жидкости, противостоя бактериальному проникновению и позволяя при этом молекулам получить доступ к клетке и выход из клетки. Она связывает катионы и сильно влияет на мобильность клетки и регенерацию тканей. Свойства гелей гиалуроновой кислоты определяются их молярной массой, распределением молярной массы и концентрацией, которые в основном определяют плотность сита, проницаемость и механические свойства.

Свойства гиалуроновой кислоты могут модифицироваться, и внутри организма существует большое число родственных полисахаридов. Коммерческие гиалуроновые кислоты вырабатываются в виде экстракта куриных гребней, но гиалуроновые кислоты могут также производиться с помощью биохимического инжиниринга из бактерий, полученных генно-инженерными методами. Гиалуроновые кислоты распадаются в организме через 2–5 дней без модификации. Однако базовая гиалуроновая структура может быть модифицирована посредством этерификации с гидрофобными группами и посредством сшивания.

Этерификация увеличивает гидрофобность, а этерификация вместе с сшиванием уменьшают водопоглощение, набухание и сокращают разрушаемость. Это позволяет адаптировать свойства коммерческих гиалуроновых кислот к соответствующим случаям применения.

10. Биомедицинские гидрогели

Гидрогели – это нерастворимые разбухающие в воде сетчатые структуры, которые изучаются с точки зрения возможности их биомедицинского применения, в частности для доставки лекарств к органам и инжиниринга тканей. Эти полимеры состоят из обширного диапазона химических веществ разного состава и могут проектироваться при широком многообразии свойств материала (например, механики и распада). В табл. 5 представлен список потенциальных преимуществ и недостатков использования гидрогелей в качестве биоматериалов.

Таблица 5 – Преимущества и недостатки гидрогелей в качестве биоматериалов

№ п/п	Преимущества	Недостатки
1.	Широкий диапазон имеющихся химических составов	Плохие механические свойства
2.	Как правило, являются биосовместимыми	Трудности при стерилизации
3.	Высокое содержание воды	
4.	Возможность инъекций, имплантация с минимальной инвазией	

10.1. Механизмы образования гидрогеля

Гидрогели образованы как из малых (мономеров), так и из больших (макромеров) исходных веществ в результате разнообразных реакций. Кроме того, гидрогели состоят из гомополимеров (один мономер), сополимеров (более одного мономера) и полувзаимопроникающих сеток, где один мономер

полимеризуется по всей уже сшитой сетке. Путем изменения типа гидрогеля можно изменить различные физические свойства, при этом можно внедрить молекулы, управляющие взаимодействиями гидрогеля с клетками и тканями.

Гидрогели образуются посредством самых различных механизмов, включая физическую и химическую желатинизацию (см. рис. 36).

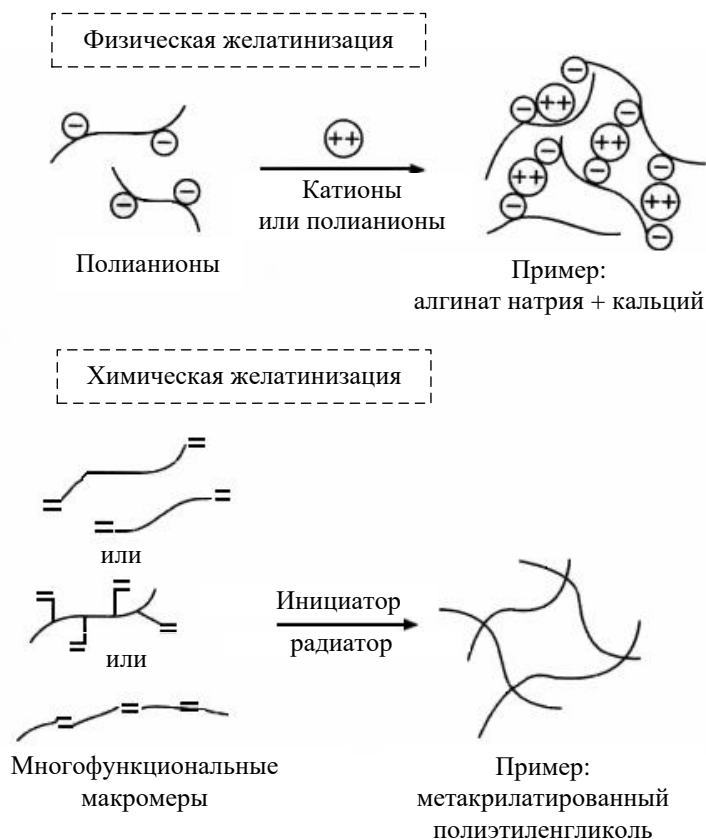


Рисунок 36 – Схема различных процессов желатинизации

Физическая желатинизация происходит, когда цепи полимера связываются посредством ионных взаимодействий, водородной связи, молекулярных

переплетений или в силу водоотталкивания материала. В целом эти гели являются гетерогенными в силу сложности межполимерных взаимодействий.

Альтернативный процесс представляет собой химическую желатинизацию, где цепи гидрогеля ковалентно связаны. В этом процессе используются такие методы, как радиация (добавление химических сшивок и использование многофункциональных реактивных составов). Реактивные группы могут располагаться в конце, в качестве подвешенных боковых групп, или на всем протяжении главной цепи мономера. Эти полимеризации управляются посредством изменений условий инициации, т.е. концентрации инициатора, интенсивности иницирующего света или температуры.

10.2. Свойства гидрогелей

Некоторые свойства гидрогелей, являющиеся важными для их конструкции и использования в качестве биоматериалов, включают набухание, механические свойства и распад. *Общие механические свойства гидрогелей основаны на теориях как вязкоэластичности, так и эластичности резины.*

Гидрогели, как правило, являются слабыми по сравнению с другими полимерами из-за высокого содержания воды, и отсюда важно проанализировать механические свойства гидрогелей для того, чтобы контролировать их для конкретных случаев применения. Экспериментально механические свойства гидрогелей, возможно, будет трудно измерить, например, из-за испарения воды во время эксперимента. Таким образом, необходимо измерять механику, когда гидрогель будет погружен в желаемый растворитель. Как испытание прочности на растяжение, так и динамический механический анализ (DMA) представляет интерес для гидрогелей, с помощью которых соответственно измеряется эластичное поведение резины и вязкоэластичное поведение. Для инжиниринга тканей обычно требуется установить соответствие между механическими свойствами гидрогеля и механическими свойствами предполагаемой ткани. *Распространенным способом контроля механических свойств гидрогеля является изменение плотности сшивания полимера.* Кроме того, механика гидрогеля изменяется за счет изменения условий полимеризации при формировании сети. Например, большое количество растворителя во время полимеризации может привести к большей циклизации в сети (когда сшивающий реагент обрабатывает обратный цикл в ту же самую кинетическую цепь, а не в сшивной мостик). Изменения условий реакции

(рН, температура, интенсивность света) могут также сыграть свою роль в механике полимера.

Набухание гидрогеля напрямую связано с механическими свойствами, поскольку оно коррелирует с составом и плотностью сшивания сети. *Набухание* – это мера содержания воды в сети, и, как правило, оно фиксируется как соотношение массы или объема сети в набухом состоянии к массе или объему сети в сухом состоянии. Кроме того, набухание может играть важную роль в транспортировке и диффузии веществ внутри гидрогеля, что является важным для сохранения жизнеспособности покрытых оболочкой или инкапсулированных клеток и для освобождения захваченных молекул в целях доставки лекарства органам. Набухание является также динамическим процессом, меняющимся с течением времени, если гидрогель не был образован при равновесном соотношении набухания или если структура изменяется вместе с распадом гидрогеля.

Гидрогели разрушаются посредством самых разнообразных процессов. Природные гидрогели, как правило, распадаются в присутствии фермента, разрезающего главную цепь гидрогеля. Эти ферменты обычно находятся по всему организму и приводят к распаду *in vivo*. Многие синтетические полимеры предназначены для гидролитического распада в силу присутствия жидкостей жизнедеятельности организма. Распад контролирует такие свойства, как размер ячейки гидрогеля, что важно для выпуска захваченных молекул и диффузии внеклеточных компонентов матрицы, производимых заключенными в оболочку клетками. Если гидрогель распадается слишком быстро, материал рассасывается до получения достаточной ткани, а если гидрогель распадается медленно, то он может превратиться в барьер для формирования ткани. Существуют случаи применения гидрогеля, когда распад клеток может быть нежелательным, в частности такие, как заключение клеток в оболочку (капсулу) для предотвращения иммунной реакции.

10.3. Типы гидрогелей

Существует множество типов гидрогелей, разработанных для сфер применения биоматериалов. Эти гидрогели являются либо природными, либо модифицированными природными полимерами или получены синтетическим путем.

К природным полимерам относятся:

- коллаген и желатин;
- гиалуроновая кислота;
- фибрин;
- альгинат;
- агароза;
- хитозан;
- декстран;
- хондроитинсульфат;
- поли-L-лизин.

Коллаген. Коллаген – это природный белок, в обилии находящийся во всем организме (в тканях, в частности таких, как связки и сухожилия). Он широко исследован в качестве «строительных лесов» (шаблона) в инжиниринге тканей. Коллаген обычно сшивается с помощью различных методов, например, с использованием глутаральдегида, карбодимида, фотоокисления с целью улучшить физические свойства (механики и распада) и таким образом расширить его сферу применения в качестве биоматериала. Например, глутаральдегид вызывает сшивание остатков лизина (аминокислоты в составе коллагена), что сокращает как скорость распада *in vivo*, так и иммуногенность, позволяя использовать коллаген, полученный от других видов. *Одним из преимуществ использования коллагена является его способность рассасываться и интегрироваться в организме.* Матрицы коллагена обычно стерилизуются гамма-излучением, обработкой этилоксидом или облучением.

Гиалуроновая кислота. Гиалуроновая кислота (или гиалуронан) – это гликозаминогликан, находящийся повсюду в организме в различных тканях и жидкостях, который связывается с конкретными поверхностными рецепторами клетки. Эта кислота является единственным несulfатированным гликозамино-силиканом, состоящим из повторяющихся звеньев N-ацетил-D-глюкозамина и D-глюкуроновой кислоты, распадающейся в присутствии гиалуронидаз. Так же как коллаген, гиалуроновая кислота, как правило, модифицируется химически для изменения своих физических свойств. Одним из распространенных способов является этерификация гиалуроновой кислоты (HYAFF), в результате чего уменьшается растворимость материала в воде и замедляется распад. Гидрогели гиалуроновой кислоты легко производятся в виде микросфер, губок и волокон в зависимости от предполагаемого случая

применения. Исследованы многочисленные методы, например фотосшивание, альдегидное сшивание, карбодимидное сшивание, используемые для модификации гиалуроновой кислоты и создания гидрогелей.

Фибрин. Фибрин – это природный полимер, образующийся посредством полимеризации фибриногена в присутствии тромбина и CaCl_2 (свертывание крови). Для того чтобы создать гидрогель фибрина, фибриноген изолируется из плазмы крови с помощью различных методик осаждения (например криоосаждения, осаждения сульфатом аммония) и разрушается тромбином для получения мономеров фибрина, которые агрегируют за счет связывания водородом и становятся нерастворимыми в результате реакции тромбина и фактора свертываемости. Для сфер применения биоматериалов фибрин производится в форме пены, листов, частиц и клея для использования в качестве клеящих составов и герметиков. Фибрин широко используется для заключения клеток в оболочку и для доставки различных факторов роста.

Альгинат. Альгинат – это природный полисахарид, состоящий из α -D-маннуроносовой кислоты и β -L-гулууроносовой кислоты, получаемой из морских водорослей. Полимеры альгината образуют гели, т.е. ионные мостики в присутствии различных двухвалентных катионов, например Ca^{2+} , Mg^{2+} , путем сшивания карбоксилатных групп гулуронатных групп на главной цепи полимера. Альгинат также ковалентно сшит и окислен в целях оптимизации физических свойств альгинатных гидрогелей. Ограничением этого подхода является ограниченный распад ковалентно сшитых альгинатных гелей, поскольку клетки не выделяют необходимых ферментов для разрезания полимера. Альгинатные гели широко используются в качестве фагоцитов в инжиниринге тканей и в качестве перевязочного материала для обработки ран.

К синтетическим полимерам относятся:

- полиэтиленгликоль;
- полиакриловая кислота;
- поливиниловый спирт;
- полипептиды;
- полифосфазен;
- полиоксиэтилметакрилат;
- поли(NIPAAm) и многочисленные комбинации вышеуказанных полимеров.

Полиэтиленгликоль. Полиэтиленгликоль – это один из наиболее широко используемых синтетических полимеров благодаря крайней гидрофильности и биосовместимости этих полимеров и производных от них гидрогелей. Полиэтиленгликоль обычно модифицируется акрилатными или метакрилатными группами, которые допускают образование гидрогеля в присутствии инициаторов посредством термически иницируемой или светоиницируемой полимеризации. С введением, например молочной кислоты, между полимером и функциональной группой могут образовываться гидролитически распадающиеся гидрогели, исследованные как для доставки лекарств органам, так и для инжиниринга тканей. Распад контролируется стабильностью распадающегося звена, числом распадающихся звеньев и плотностью сшивания сети. В связи с процессом образования сети в организм могут вводиться исходные растворы (переносящие лекарства или клетки) и затем полимеризоваться *in vivo*.

Поли(NIPAAm). P(NIPAAm) демонстрирует обратимый переход фаз при температуре приблизительно 32 °C, где цепи переходят из водорастворимого состояния в водонерастворимое, и изменение фаз происходит добавлением гидрофобных и гидрофильных групп. Поли(NIPAAm), сополимеризованный с акриловой кислотой, разрабатывается в качестве вводимого посредством инъекций гидрогеля для инжиниринга тканей, поскольку после достижения физиологических температур отмечается увеличение желатинизации.

10.4. Гидрогели для инжиниринга тканей

Каждый год утрата органов из-за травм или болезней приводит к значительной заболеваемости миллионов пациентов. В то время как золотым стандартом для замены органов является трансплантация как из аутологических, так и аллогенных источников, заболеваемость доноров (аутологический фактор) и дефицит доноров (аллогенный фактор) остаются серьезными ограничениями. Область инжиниринга тканей открывает большие перспективы в инжиниринге новых тканей или органов с помощью ряда различных стратегий. *Распространенным подходом в инжиниринге тканей является комбинирование собственных клеток пациента с полимерным шаблоном* и их использование для образования новой ткани *in vitro* или для доставки клеток *in vivo* и образования тканей. Многие из полимеров, описанных выше, все больше и больше изучаются в качестве строительных лесов (шаб-

лонов) для случаев применения инжиниринга тканей. В табл. 6 перечисляются некоторые важные свойства, которые необходимы для каркасов, предназначенных для инкапсуляции клеток.

Таблица 6 – Проектные критерии гидрогелей для тканевых каркасов и для инжиниринга тканей

№ п/п	Физические свойства	Биологические свойства	Свойство транспортировки массы
1	Механизмы и динамика образования геля (для обеспечения минимально инвазивной доставки)	Биосовместимость	Требования к диффузии (соответствующая диффузия питательных веществ и метаболитов)
2	Механические свойства (соответствующая целостность и прочность)	Содействие прикреплению, росту, делению и дифференцировке клеток	
3	Скорости распада (соответственно случаю применения)		

Общей особенностью нескольких гидрогелей является способность желатинизации происходить при условиях, которые не являются токсическими для клеток. Это позволило клеткам и молекулам перемещаться с раствором полимера и впрыскиваться с помощью инъекций *in vivo* в той точке, в которой может быть запущена желатинизация.

Механические свойства гидрогелей могут задаваться так, как было описано выше в настоящей главе. Для случаев применения инжиниринга тканей гидрогелю, который называется каркасом, или шаблоном, может потребоваться выполнить грузонесущую и / или объемосохраняющую функцию. Кроме того, может потребоваться, чтобы каркасы передавали механические стимулы клеткам по мере необходимости для их дифференцировки и последующего роста тканей. Для некоторых случаев применения, предусматривающих грузонесущую функцию (например, дефекты кости), относительно низкие механические свойства гидрогелей могут оказаться проблематичными.

Интересной недавней разработкой в инжиниринге тканей стало включение разрушаемых ферментами пептидных последовательностей в синтетические гидрогели, обеспечивающие распад каркасов.

Свойства гидрогелей, связанные с транспортировкой масс, являются очень важными для инжиниринга тканей, поскольку строительные леса должны обеспечивать соответствующую транспортировку питательных веществ, метаболитов, газов и клеток по тканевым каркасам. Диффузия молекул и питательных веществ внутрь, а продуктов обмена из каркасов зависит от свойств, как молекулы, так и материала каркаса и их взаимодействий. Присутствие и тип нанопор внутри структуры геля будут зависеть как от полимера, так и от условий желатинизации. Гидрогели могут также содержать поры, достаточно большие для миграции клеток, или могут быть предназначены для растворения и распада с течением времени или в ответ на сигналы клеток создать поры, в которые клетки могут войти и разрастись.

*С точки зрения желательных биологических свойств гидрогелей биосовместимость является существенным требованием. Это будет распространяться на биосовместимые условия желатинизации в случае желатинизации *in vivo*. Для того чтобы произошло развитие ткани внутри гидрогелевых каркасов, иногда необходимо способствовать миграции клеток в каркасы и их последующему прикреплению, делению и дифференцировке, включая инкапсулированные клетки. Гидрогели, образованные из белков природного внеклеточного матрикса (ЕСМ), такие как коллаген, могут способствовать клеточному прикреплению и делению клеток. Гиалуроновая кислота также играет свою роль во многих клеточных функциях, и отсюда имеет право на биологическое признание в качестве биоматериала. Однако многие гидрогели не имеют клеточных рецепторов и по природе своей являются гидрофобными, вызывая слабое поглощение белков ЕСМ на поверхности гидрогеля, и в результате этого прикреплению клеток к гидрогелю затруднено. Отсутствие узнавания и связывания с клеточными рецепторами было преодолено путем модификации полимеров, в частности таких, как альгинат, поли(NIPAAm) и полиэтиленгликоль, различными приклеивающими пептидами и белками. Распространенная пептидная последовательность, используемая в этом подходе, – это аргинин-глицин-аспартановая кислота (RGD), которая получается*

из белков ЕСМ, в частности таких, как фибронектин и коллаген и может специфически связываться с клеточными рецепторами. Факторы роста или пептиды, полученные из факторов роста, могут также взаимодействовать с каркасом или высвободиться из клеток с последующим расщеплением, способствуя миграции, делению или дифференцировке клеток.

Были исследованы гидрогели в качестве каркасов для доставки клеток и роста тканей в целях разработки широкого диапазона тканей, включая хрящи, кости, печень, нейроны, мышцы и жировую ткань. Их использование, в частности для формирования хряща, было исследовано достаточно глубоко, поскольку макромолекулярная структура хряща, состоящего из высокогидрированной ткани, включающей клетки внутри коллагена и гликозамингликанов (GAG), аналогична структуре гидрогеля. Для этой цели был изучен альгинат, в результате чего было установлено, что он способствует поддержанию жизнеспособности и сохранению фенотипа клеток, специфичных для хряща (хондроцитов), позволяя им производить белки ЕСМ, в частности и такие, как коллаген типа II и GAG, которые совместимы с хрящом. В целом гидрогели не обладают механическими свойствами тканей, например костной, и, как правило, *используются в инжиниринге тканей кости*, где не предусматривается нагрузка. Среди других случаев применения гидрогелей – это использование коллагена для инжиниринга кровеносных сосудов и использование альгината в качестве матрикса для шванновских клеток при пересадке нервов.

Для сфер применения биоматериалов разработано множество типов гидрогелей. Эти гидрогели либо являются природными (например, фибрин, коллаген и желатин, гиалуроновая кислота, альгинат и агароза), либо модифицированными природными полимерами, или получают синтетическим путем (например, полиэтиленгликоль, полиакриловая кислота, поливиниловый спирт и полипептиды). Многие из этих гидрогелей все чаще исследуются с точки зрения их применения в качестве каркасов для инжиниринга тканей, в частности для формирования хрящей, костей, печени, нейронов, мышц и жировой ткани. Для таких сфер применения следует учитывать свойства, касающиеся транспорта масс, а также физические и биологические свойства гидрогелей и задавать их для конкретного случая применения.

Контрольные вопросы

1. Какие осевые нагрузки выдерживает бедренная кость и большая берцовая (по отношению к весу человека)? Приведите пример.
2. Из каких трех основных частей состоит кость?
3. Сколько типов коллагена имеется в организме человека, и каковы его особенности?
4. За счет чего и чем определяется высокая прочность на разрыв и гибкость коллагена, каков его модуль Юнга?
5. Каковы особенности перепончатой губчатой кости и решетчатой?
6. Какова прочность на сжатие и на растяжение губчатой кости и кортикальной кости?
7. Что такое предел усталости кости?
8. Какова структура и функция сухожилий и связок?
9. Каковы особенности регенерации поврежденного бессосудистого сухожилия?
10. Что такое хрящ?
11. Приведите пример эластичного, фиброзного и суставного хрящей.
12. Каковы составляющие внеклеточного матрикса, окружающего хондроциты?
13. Каковы три главных компонента сердечно-сосудистой системы?
14. Каковы особенности строения сердца человека?
15. Какие анатомические элементы сердца на сегодняшний день возможны к протезированию?
16. Чем обусловлена актуальность поиска новых материалов для замены крови?
17. Что такое биосовместимые полимеры?
18. Что такое PET, PU, PTFE, PE, PMMA?
19. Какие части человеческого тела заменяют имплантатами из PMMA, PTFE?
20. Какие три типа полиэтилена используются в биомедицинских сферах?
21. Что такое полисилоксановые эластомеры?
22. Охарактеризуйте два основных типа полисилоксанового клея и его функциональные возможности.
23. Что такое биорассасывающиеся полимеры? Привести примеры.
24. Каковы основные механизмы образования гидрогеля?
25. Свойства и типы гидрогелей.

Часть III. ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОМАТЕРИАЛОВ

11. Восстановление скелетных тканей

11.1. Механизмы и уровни восстановления кости

Кость способна регенерировать и изменять свою микро- и макроструктуру. Это осуществляется благодаря тонкому балансу между *остеогенным* (костеобразующим) и *остеокластным* (костеудаляющим) процессами. Кость может адаптироваться к новой механической среде путем изменения равновесия между *остеогенезом* (образованием костной ткани) и *остеоклазисом* (разрушением кости). Эти процессы будут реагировать на изменения в виде статического и динамического напряжения, приложенного к кости. Если приложенное напряжение больше нормального физиологического уровня, равновесие отклоняется в направлении остеоклазиса (эта зависимость известна как закон Вольфа о перестройке структуры кости).

Природа предусмотрела различные типы механизмов восстановления кости после переломов, для того чтобы можно было справиться с различными механическими средами, окружающими перелом. Например, неполные переломы (трещины), которые допускают только микроперемещение между фрагментами перелома, заживают с небольшим количеством мозолей по линии перелома или без них. Это называется *первичным заживлением*.

В отличие от неполных переломов, полные переломы являются нестабильными и поэтому генерируют макроперемещение и заживают с большой мозолью, выходящей по бокам кости. Этот процесс называется *вторичным заживлением*.

Существуют четыре биомеханические стадии восстановления кости после перелома, которые обобщены в табл. 7. Они соответствуют клеточным изменениям, зависимым от времени и от типа внеклеточного матрикса на участке восстановления ткани. Прочность заживающего перелома значительно увеличивается, когда происходит минерализация остеоида, т.е. приблизительно через 4–6 недель после начала заживления.

Таблица 7 – Четыре биомеханические стадии восстановления кости после перелома

Стадия	Описание
I	На участке первоначального перелома кость не функционирует, для нее характерна малая жесткость (как жесткость резины).
II	Кость не функционирует на участке первоначального перелома, но имеется твердая ткань с большой жесткостью.
III	Кость частично не функционирует на участке первоначального перелома и частично на не пострадавшей части кости, имеется твердая ткань с высокой жесткостью
IV	Участок отказа не соотносится с участком первоначального перелома. Отказ происходит при высокой жесткости.

11.2. Цели фиксации перелома

Цели лечения перелома заключаются в следующем:

- добиться быстрого заживления;
- восстановить функцию;
- сохранить пространственную структуру;
- избежать общих или локальных осложнений, в частности инфекций.

Выбор метода лечения помогает исключить возможные осложнения, в частности перемещения между фрагментами кости, которые могут задержать или помешать заживлению перелома. Каждый перелом – это уникальное сочетание характеристик, требующих конкретных методов лечения. Виды лечения могут быть нехирургическими или хирургическими. Примерами нехирургического лечения является иммобилизация с помощью слепка (из гипса или смолы) или с помощью пластмассового фиксирующего устройства. Хирургические виды лечения разделяются на: а) внешнюю фиксацию перелома, не требующую открытия участка перелома, б) внутреннюю фиксацию перелома, требующую открытия участка перелома.

В случае *внешней фиксации перелома* фрагменты кости удерживаются в отцентрованном положении посредством шпилек, установленных через кожу в скелет и конструкционно опирающихся на внешние стержни.

В случае *внутренней фиксации перелома* фрагменты кости крепятся посредством проволок, винтов, пластин и / или интрамедуллярных устройств.

Все внутренние устройства фиксации должны отвечать общим требованиям: биосовместимости, достаточной прочности в пределах габаритных ограничений и коррозионной устойчивости. Устройство должно также обеспечивать подходящую механическую среду для заживления перелома. С этой точки зрения нержавеющая сталь, кобальтохромовые и титановые сплавы являются наиболее подходящими для внутренней фиксации. Большинство устройств внутренней фиксации остаются в организме после заживления перелома, часто причиняя дискомфорт и требуя удаления. Биоразрушаемые полимеры (например, полимолочная кислота (PLA) и полигликолевая кислота (PGA)) используются для лечения минимально нагруженных переломов, исключая тем самым необходимость второй хирургической операции для удаления имплантата. Список биоматериалов, используемых для внутренней фиксации, приведен в табл. 8.

Таблица 8 – Перечень биоматериалов, используемых для внутренней фиксации

Материалы	Свойства	Применение
Нержавеющая сталь	Низкая стоимость изготовления	Хирургическая проволока (отжиг); шпилька, пластина, винты, интрамедуллярные гвозди
Сплав Ti	Высокая стоимость; низкая плотность и модуль; отличная костная интеграция	Хирургическая проволока (отжиг); шпилька, пластина, винты, интрамедуллярные гвозди
Сплавы Co-Cr (кованый)	Высокая стоимость; высокая плотность и модуль; трудный для изготовления	Хирургическая проволока, интрамедуллярные гвозди
Нейлон	Нерассасывающаяся пластмасса	Серкляжная лента

Относительный успех зависит от сочетания свойств биоматериала и конструкции устройства, которое должно соответствовать биомеханическим нагрузкам, прилагаемым к заживающей кости. Если нагрузки слишком большие, произойдет отказ.

11.3. Ортопедические металлы

В ортопедии широко используются три следующих класса металлов: нержавеющая сталь, сплавы кобальта – хрома (Co – Cr) и титановые сплавы.

Нержавеющая сталь 316L устойчива к коррозии в богатых солью жидкостях организма благодаря высокому содержанию хрома (17–20 % по весу) и низкому содержанию углерода (менее 0,03 %). Добавление молибдена (Mo) к сплаву улучшает устойчивость к питтинговой коррозии; никель добавляется для стабилизации аустенитической фазы при комнатной температуре и для усиления устойчивости к коррозии. *Механические свойства нержавеющей стали 316L в значительной степени зависят от отжига или холодной обработки.* Холоднообработанный (кованый) металл значительно прочнее. Нержавеющие стали, как правило, используются для временных имплантатов из-за чувствительности к локальной коррозии, где происходят концентрации напряжений и кислородное истощение, как это имеет место под винтами пластины, используемой для фиксации перелома.

В ортопедии используются *два типа кобальтохромовых сплавов*: один сплав для изготовления продукции посредством литья (Co – Cr – Mo: F75) и другой – дляковки устройств (кованые устройства) (Co-Cr-W-Ni: F90).

Сплав Co – Cr – Mo является очень устойчивым к коррозии в соляных растворах организма, даже под действием напряжений, благодаря высокому содержанию Cr, образующему защитную пленку окисла хрома на поверхности.

Кованые сплавы Co – Cr обладают отличной прочностью на растяжение и усталостной прочностью, что делает их более предпочтительными для имплантатов, требующих долговечность без усталостного разрушения и усталостных напряжений (в частности, для протезов всего сустава).

Наиболее предпочтительным титановым сплавом, используемым для имплантатов, являются Ti₆ – Al₄ – V. Добавление 6 % алюминия стабилизирует шестигранную плотно упакованную (α-Ti) фазу, а добавление 4 % ванадия стабилизирует отцентрованную по телу кубическую фазу (β-Ti).

Мелкозернистая двухфазовая микроструктура обеспечивает отличную механическую прочность $Ti_6 - Al_4 - V$, при этом ее модуль упругости ниже модуля и нержавеющей стали, и сплавов Co-Cr, что может уменьшить экранирование кости от напряжений до среднего уровня. Значительным преимуществом сплавов Ti является их великолепная устойчивость к коррозии благодаря образованию очень стабильной фазы окисла TiO_2 на поверхности во время обработки. Плохая прочность на сдвиг и усталостная чувствительность к надрезам делают сплавы Ti менее предпочтительными для некоторых типов устройств внутренней фиксации.

11.4. Устройства для фиксации перелома

Проволоки. Хирургические проволоки используются для закрепления больших фрагментов кости, такой, например, как большой вертел, который часто отсоединяется при полной замене бедра. Проволоки также используются для придания дополнительной стабильности при длинных косых или спиральных переломах трубчатых костей, которые уже были с помощью каких-либо средств стабилизированы.

Штифты. Прямые проволоки называются *штифтами Штаймана*. Однако, если диаметр проволоки меньше 2,38 мм, он называется *штифтом Киршнера*. Эти штифты широко используются, прежде всего, для временной или постоянной фиксации фрагментов кости, а также для направления больших винтов во время их введения в кость. Для облегчения имплантации штифты имеют разные конструкции наконечников, оптимизированные для разных типов кости. Трокарный наконечник, имеющий три режущие поверхности, является самым эффективным при резании, поэтому он часто используется для кортикальной кости. Фиксирующая способность штифта обеспечивается упругой деформацией окружающей кости. Для того чтобы увеличить фиксирующую способность кости, используются штифты с резьбой. Большинство штифтов изготовлено из нержавеющей стали марки 316L. В последнее время для лечения минимально нагруженных переломов используются биораспадающиеся штифты, изготовленные из полимолочной или полигликолевой кислоты.

Винты. Винты – это наиболее широко используемые устройства для фиксации фрагментов кости.

Имеется два типа костных винтов:

- винты для кортикальной кости, имеющие маленькую резьбу;
- губчатые винты, имеющие большую резьбу для получения большего контакта между резьбой и костью.

Винты могут иметь либо V-образную, либо трапециевидную резьбу.

Кортикальные винты классифицируются в зависимости от своей способности опираться на кость: самонарезающиеся и несамонарезающиеся. Самонарезающиеся винты имеют стружечную канавку, нарезаая вспомогательное сверлильное отверстие во время фиксации. В отличие от них, несамонарезающиеся винты вставляют для фиксации в нарезанное сверлом вспомогательное отверстие. Фиксирующая способность винтов может зависеть от размера вспомогательного сверлильного отверстия, глубины зацепления винта, наружного диаметра винта и качества кости. Поэтому выбор типа винта должен основываться на оценке качества кости во время фиксации. При аналогичных условиях самонарезающиеся винты обеспечивают несколько большую фиксацию, чем несамонарезающиеся.

Есть два основных случая применения костных винтов:

- в качестве устройств межфрагментной фиксации для закрепления фрагментов кости;
- для присоединения металлической пластины к кости.

Пластины. Пластины разнообразных форм и размеров предназначаются для облегчения фиксации фрагментов кости. Они могут быть как очень жесткими, предназначенными для первичного заживления кости, так и относительно гибкими, предназначенными для уменьшения физиологической нагрузки на кость.

Задачи, решаемые конструкцией пластин:

- увеличить скорость заживления перелома;
- уменьшить потерю костной массы в районе, защищенном пластиной;
- уменьшить вероятность повторных переломов, которые могут возникать после удаления пластины.

Жесткость и прочность пластины при сгибании зависят от формы сечения (главным образом от толщины) и материала, из которого она изготовлена. Следовательно, самым слабым местом в пластине является отверстие под винт, в особенности, если это отверстие оставляется пустым из-за уменьшения площади сечения в этом месте. Воздействие материала на жесткость пла-

стины устанавливается модулем упругости материала для сгибания и модулем сдвига для скручивания. Поэтому, при одних и тех же габаритных размерах пластина из титанового сплава будет менее жесткой, чем пластина из нержавеющей стали, поскольку модуль упругости каждого сплава составляет 110 и 200 ГПа соответственно.

Жесткие пластины часто экранируют находящуюся под ними кость от физиологических нагрузок, необходимых для здорового организма. Это называется *экранированием напряжений*. Аналогичным образом плоские пластины, плотно посаженные на кость, мешают кровеносным сосудам осуществлять питание внешних слоев кости. Использование более гибких пластин допускает микроперемещение, а низкоконтактные пластины (LCP) позволяют восстановить функции сосудов, ведущих к кости. Взаимодействие кости и пластины крайне важно, поскольку они объединены в общую композитную структуру. Стабильность композита «пластина – кость» и срок службы пластины зависят от точного уменьшения перелома. Сжатие между фрагментами перелома может достигаться с помощью пластины специального типа, называемой *пластиной динамического сжатия*. Излишнее сгибание уменьшает срок службы пластины. Самыми распространенными режимами отказа фиксации кости «пластина – винт» являются ослабление винта и выход пластины из строя. Последнее, как правило, происходит в отверстии под винт из-за усталости и / или щелевой коррозии.

Интрамедуллярные гвозди. Интрамедуллярные устройства (гвозди IM) используются в качестве внутренних стоек для стабилизации переломов длинных костей. Интрамедуллярные гвозди также используются для фиксации переломов шейки бедренной кости или вертлужной кости. Однако этот случай применения требует добавления винтов. По сравнению с пластинами гвозди IM лучше могут противостоять разнонаправленному сгибанию, поскольку они располагаются в центре кости. Однако их сопротивление воздействию скручивающих усилий меньше сопротивления пластин. Поэтому при конструировании или подборе интрамедуллярного гвоздя желателен высокий полярный момент инерции для улучшения крутильной жесткости и прочности при скручивании. Крутильная жесткость гвоздя IM пропорциональна модулю упругости и моменту инерции. Для гвоздей с круглым сечением крутильная жесткость пропорциональна четвертой степени радиуса гвоздя. Толщина стенки гвоздя также влияет на жесткость.

Кроме необходимости противостоять сгибанию и скручиванию, важно, чтобы гвоздь IM имел большую площадь соприкосновения с внутренним слоем кости, для того чтобы крутильные нагрузки могли передаваться и гаситься напряжением сдвига. Для создания напряжения сдвига используются два различных подхода: 1) трехточечное соприкосновение высокого давления, достигаемое посредством вставки криво-образных штифтов; 2) надежное сцепление между гвоздем и интрамедуллярным каналом для получения объединенной структуры. Надежное сцепление может быть усилено посредством развертки интрамедуллярного канала. Развертка обеспечивает большую площадь контакта между гвоздем и костью и позволяет использовать более крупный гвоздь с увеличенной жесткостью и прочностью.

11.5. Биоактивные материалы в качестве добавок костного трансплантата

Существует множество клинических обстоятельств, когда требуются костные трансплантаты, т.е. замена кости после удаления опухоли, ревизионной хирургии вышедших из строя протезов всего бедра, восстановления альвеол после удаления пострадавших коренных зубов, соединения позвонков и восстановления костных разъемов. Желательно использовать ауто-трансплантат или собственную кость пациента. Однако зачастую запас ауто-трансплантатной кости бывает недостаточным или качество кости низкое, что вынуждает использовать *костную добавку – аллотрансплантат*. В качестве аллотрансплантатов используются биоактивные материалы, как сами по себе, так и смешанные с небольшими количествами собственной кости пациента, что часто называется «паштетом», который создает клетки-предшественники и факторы роста кости, в частности такие, как образующие костную ткань белки (BMP).

Биоактивный материал – это материал, вызывающий специфическую биологическую реакцию на стыке материала и живой ткани, что приводит к образованию связи между тканями и материалом. Такая связь впервые была доказана в 1969 г. Эта концепция в настоящее время охватывает большое число биоактивных материалов с широким диапазоном скоростей создания связи и толщины межповерхностных соединительных слоев. Они включают биоактивные виды стекла (Bioglass®), биоактивную стеклокерамику (Cerabone®), стеклокерамику (A/W) или механически обрабатываемую стек-

локерамику, плотный гидроксилapatит (Durapatite® или Calcitite®), биоактивные композиты (полиэтилен-Bioglass®), смеси полиэтилен-гидроксилapatит (HAPEX®). Эти биоактивные материалы образуют межповерхностную связь с костью.

Некоторые даже более специализированные составы биоактивных видов стекла присоединяются к мягким тканям, а также к кости. Общей характеристикой биоактивных стекол и биоактивной керамики является зависящая от времени, кинетическая модификация поверхности, которая происходит после имплантации. Поверхность образует биологически активный слой гидроксилкарбонатапатита (НСА), который обеспечивает связующий стык с тканями. Фаза НСА, образующаяся на биоактивных имплантатах, химически и структурно эквивалентна минеральной фазе в кости. Именно биологическая эквивалентность слоя НСА, образующаяся на биоактивной поверхности имплантата, обеспечивает межповерхностное соединение. Будучи биоактивными, материалы создают клейкий стык с тканями, который противодействует значительным механическим силам. Во многих случаях межповерхностная прочность прилипания равна или больше прочности сцепления материала имплантата или ткани, присоединенной к биоактивному имплантату.

12. Замена суставов

Замена поврежденных суставов имплантатами-протезами принесла облегчение миллионам пациентов с ограниченной подвижностью, которые были обречены на жизнь, полную страданий и боли. По предварительным оценкам, более 30 млн человек в мире страдают остеоартритом, заболеванием, повреждающим суставы. Травмы и переломы, связанные с остеопорозом, также ведут к необходимости замены сустава.

Очень успешно показали себя металлические устройства для ортопедии, в результате чего ежегодно имплантируются сотни тысяч таких устройств. Первоначальные сферы применения предусматривали их использование в качестве съемных устройств, в частности устройств для стабилизации переломов. Постоянные замены суставов начались в 1960-х гг., когда профессор Чарли применил самозатвердевающий полиметилметакрилат (РММА) – «костный цемент», обеспечивший стабильный механический анкер (якорь) для металлического протеза в его костной станине. Этот тип ан-

керного крепления имплантатов к кости называется *цементной фиксацией*. Клинический успех цементированных ортопедических имплантатов вызвал быстрый рост их использования, в особенности для замен бедра (это называется полной артропластикой тазобедренного сустава (ТНА)), и для замен коленного сустава. В табл. 9 показаны свойства и сферы применения распространенных биоинертных материалов для имплантатов.

Таблица 9 – Свойства и сферы применения распространенных биоинертных материалов для имплантатов

Материалы	Свойства	Сферы применения
Сплав Со – Сг	Тяжелый, твердый, жесткий, высокая износостойкость	Стержень, головка (шар), чашка, пористое покрытие
Сплав Ti	Низкая жесткость	Стержень, пористое покрытие, металлическая подкладка для UHMWPE
Чистый титан	Отличная остеоинтеграция (интеграция с костью)	Пористое покрытие
Гидроксилapatит кальция	Быстрая остеоинтеграция, долгосрочный распад	Поверхностное покрытие
Окись алюминия	Твердый, хрупкий, высокая износостойкость	Головка, чашка
Двуокись циркония	Тяжелый, высокая ударная вязкость, высокая износостойкость	Головка
UHMWPE		Чашка, верхняя суставная поверхность
РИМА	Хрупкий, слабый при растяжении, низкая усталостная прочность	Фиксация костным цементом

Увеличение числа имплантатов совпадает с увеличением продолжительности жизни пациентов и с уменьшением среднего возраста пациентов, получающих имплантат. Это означает, что растущая доля пациентов переживет ожидаемый срок службы своих протезов. Когда имплантат выйдет из строя, потребуются ревизионная хирургия.

Полная замена суставов – это постоянные имплантаты, в отличие от тех, которые используются для лечения переломов. Большой объем кости и хряща, удаляемый во время имплантации, делает процедуру необратимой.

Конструкция имплантата для замены сустава основана на кинематике и динамической характеристике передачи нагрузки сустава. Свойства материала, форма и методы, используемые для фиксации имплантата, определяют характеристики передачи нагрузки. Это важный элемент, определяющий долгосрочное выживание имплантата. Перегрузка стыка «имплантат – кость» или защита его от передачи нагрузки приводит к рассасыванию кости и последующему ослаблению имплантата (экранированию от напряжений). Сочленяющиеся поверхности сустава должны функционировать при минимальном трении и производить минимальное количество продуктов износа. Имплантат должен быть надежно закреплен к организму (в идеале во время имплантации). Удаление имплантата не должно требовать уничтожения большого количества окружающих тканей, поскольку потеря ткани, в особенности кости, затрудняет реимплантацию и сокращает срок службы второй замены сустава (ревизионная хирургия).

12.1. Основные определения

Волоконная мембрана – тонкий слой мягкой ткани, покрывающей имплантат для изоляции его от организма.

Вторичное заживление – костное соединение с образованием мозоли.

Мозоль – беспорядочная сетчатая структура губчатой кости, образующаяся после перелома кости для ранней стабильности перелома.

Некроз – гибель ткани, вызываемая ферментами или нагреванием.

Остеогенный процесс – процесс образования новой кости при росте или восстановлении кости клетками, называемыми остеобластами.

Остеоинтеграция – прямой контакт костных тканей с поверхностью имплантата без волоконной мембраны.

Остеокластический процесс – процесс разрушения кости или удаления изношенной костной ткани костными клетками, называемыми остеокластами.

Первичное заживление – заживление кости, при котором соединение происходит напрямую, без образования мозоли.

Рассасывание кости – потеря материала кости из-за преобладания остеоклазиса над остеогенезом.

12.2. Замена сустава бедра

Протез для замены всего бедра состоит из бедренного и вертлужного компонентов (см. рис. 37). Бедренный стержень подразделяется на головку, шейку и вал, изготовлен из сплава Ti или Co – Cr (менее дорогая нержавеющая сталь марки 316L по-прежнему используется в некоторых странах) и фиксируется в развернутый медуллярный канал посредством цементирования или прессовой посадки. Бедренные головки изготовлены из сплава Co – Cr, окиси алюминия или двуокиси циркония. Хотя головки из сплава Ti функционируют хорошо при чистых условиях сочленения, они меньше используются из-за своей низкой устойчивости.

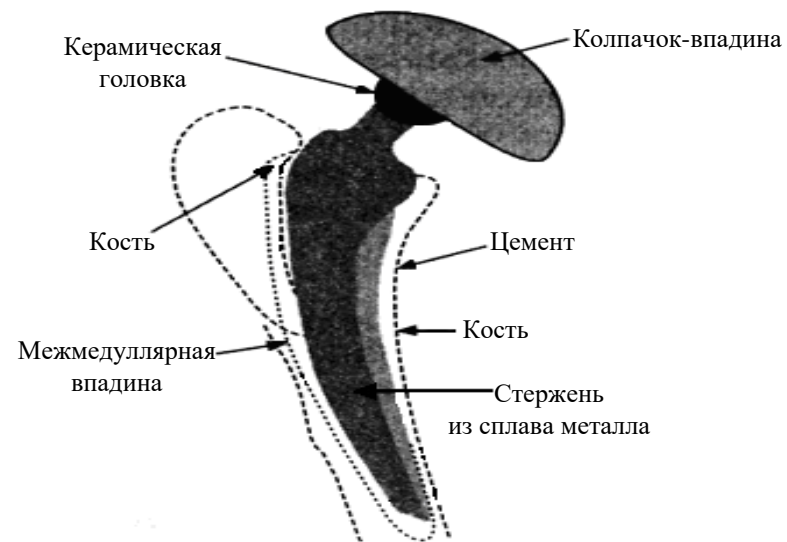


Рисунок 37 – Схема цементированного протеза бедра Чарнли

Монолитные бедренные протезы состоят из одной части и обладают преимуществом, заключающимся в том, что они менее дорогие и менее склонны к коррозии или разборке. Модульные устройства состоят из двух и более частей и требуют сборки во время операции. Модульные компоненты позволяют сделать индивидуальный имплантат для каждого пациента во

время операции и в ходе ревизионных операций. Длина конечности может быть изменена за счет шейки бедра после установки стержня на место и цементации. Изношенная полиэтиленовая несущая поверхность может быть заменена новой без удаления металлической части протеза из кости. В модульных имплантатах бедренная головка устанавливается в шейку бедра с помощью конуса Морзе, который позволяет делать замену материала головки, изменять диаметр головки и длину шейки. В табл. 9 была приведена обобщенная информация о наиболее часто используемых сочетаниях материалов при полной замене бедра.

Бедренный сустав – это шаровой шарнир. Стабильность создается согласованностью имплантатов, мышц таза и капсулы. Все компоненты бедра оптимизированы и обеспечивают широкий диапазон перемещения сустава-протеза, чтобы шейка протеза не задевала края вертлужной впадины. Конструкции совершенствовались таким образом, чтобы имплантаты могли удерживать нагрузки, достигающие восьмикратного веса тела. Соответствующая длина шейки бедра и правильное восстановление центра перемещения и бедренного смещения уменьшают напряжение сгиба на стыке протез – кость.

Высокие концентрации напряжений или экранирование от напряжений могут привести к рассасыванию кости вокруг имплантата. Причиной экранирования от напряжений является очень большой модуль упругости (жесткости) ортопедических материалов (особенно сплав Co – Cr – Mo), который в 10–15 раз больше модуля упругости кортикальной кости.

12.3. Механизмы выхода из строя

Существует несколько основных причин выхода из строя всего сустава:

- ✓ асептическое ослабление протеза;
- ✓ биологические факторы, включая реакцию организма-хозяина;
- ✓ свойства материала – компонента имплантата;
- ✓ инфекция;
- ✓ хирургические приемы или механические причины;
- ✓ вывих;
- ✓ перелом имплантата;
- ✓ перелом кости.

Асептическое ослабление компонентов протеза – это самая распространенная причина выхода из строя. Оно касается выхода из строя протезов сустава без присутствия механической причины или инфекции. Это часто связано с остеолитом (рассасыванием кости) и воспалительной клеточной реакцией внутри сустава. Клинически асептическое ослабление определяется на основании рентгенографических данных и присутствия светящихся линий на стыке между цементом кости и имплантатом. Миграция имплантатного компонента может также вызвать значительный остеолит. Остеолит также идентифицирован вокруг хорошо зафиксированных имплантатов. Осложнения у пациентов с протезами сустава часто связаны с высвобождением специфических продуктов износа. Эти продукты можно разделить на три категории:

- полиэтилен ультравысокого молекулярного веса (UHMWPE) от вертлужного или большеберцового компонента;
- отходы от износа металла вертлужных, бедренных или большеберцовых компонентов, изготовленных из сплава титана или кобальт – хром;
- полиметилметакрилатный костный цемент.

Приложение нагрузки и перемещение протеза образуют отходы износа от сочленяющихся поверхностей и от стыков, где имеется микроперемещение. Основным источником износа при нормальных условиях является поверхность UHMWPE в чашке. При каждом шаге генерируется множество частиц, и значительное количество этих частиц имеет диаметр меньше 1 мкм. Клетки иммунной системы пациента реагируют на частицы полиэтилена как на чужеродный материал и инициируют сложную воспалительную реакцию. Эта реакция приводит к потере вещества кости, рассасыванию кости, ослаблению и / или перелому кости. В настоящее время делается очень многое для того, чтобы модифицировать свойства материала UHMWPE, закалить и оптимизировать поверхностную обработку головки бедра и разработать другие несущие пары, например керамика – керамика и металл – металл.

12.4. Выживаемость протеза всего бедра

Цементированная низкофрикционная полная артропластика бедра (типа Чарнли) (ТНА) с использованием металлического бедренного компонента и чашки UHMWPE имеет наивысший уровень клинического успеха. Кривая графика выживаемости протеза всего бедра (кривая Каплана – Мейера),

изображенная на рис. 38, основывается на 42 опубликованных клинических исследованиях с участием 15051 пациента в течение 25 лет.

Для полной замены бедра с использованием цементированного низкофрикционного протеза средний предполагаемый срок службы составляет 19 лет.

Будет ли продолжаться падение выживаемости в интервале от 15 до 20 лет, показанное на рис. 38 остается неясным. Достижения в области хирургии должны привести к улучшению показателей в интервале 15–25 лет для цементированных ТНА.

Срок службы ТНА зависит от следующих факторов:

- ✓ пол (срок службы ТНА у мужчин короче, чем у женщин);
- ✓ вес (у людей с избыточным весом срок службы короче, чем у людей с нормальным весом);
- ✓ возраст (у молодых пациентов с большей активностью срок службы короче, чем у людей старшего возраста).

Низкофрикционный ТНА характеризуется маленьким риском выхода из строя для пациентов в возрасте старше 65 лет и обычно считается стандартом для замены бедра.

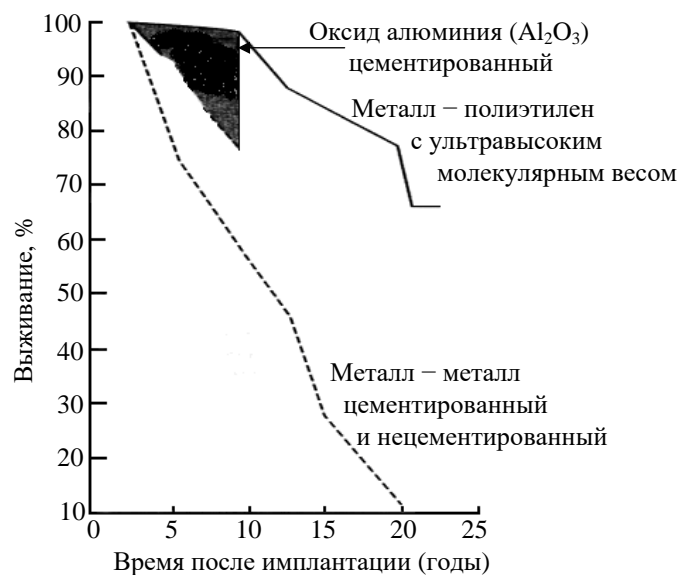


Рисунок 38 – График выживаемости протеза всего бедра

Другие типы систем ТНА обычно демонстрируют более низкую выживаемость по сравнению с цементированным низкофрикционным типом. Протез из цементированного окисла алюминия является исключением.

Нецементированные системы ТНА, независимо от средств фиксации, как правило, демонстрируют более низкие результаты выживаемости, тем не менее улучшение гидроксилатапитных покрытий (НА) может привести к более продолжительной выживаемости в течение следующих 10 лет. Разница, по всей видимости, составляет 5 лет и увеличивается в зависимости от времени. Разница между цементированным и нецементированным ТНА, показанная на рис. 38, подтверждается исследованием, которое провел Хавелин на 14 тыс. пациентах. Это исследование свидетельствует о том, что число выходов из строя нецементированных бедер за 5 лет увеличилось в два раза.

12.5. Новые разработки, направленные на улучшение выживаемости

Оксид алюминия (Al₂O₃) высокой плотности и высокой чистоты (больше 99,5 %) используется в качестве бедренной головки в несущем нагрузке протезе бедра (для молодых пациентов) благодаря сочетающейся в нем отличной коррозионной устойчивости, хорошей биосовместимости, высокой износостойкости и высокой прочности. Большинство устройств из Al₂O₃ – это очень мелкозернистый поликристаллический α-Al₂O₃. Оксид алюминия со средним размером зерна (меньше 4 мкм) и чистотой больше 99,7 % демонстрирует хорошую прочность на изгиб и отличную прочность на сжатие. Имплантаты из окисла алюминия, соответствующие или превосходящие стандарты ISO, обладают отличной сопротивляемостью динамической и статической усталости и противостоят критическому росту трещин и выходу из строя имплантата. Прогнозируется долгосрочный клинический успех и срок службы 30 лет (под нагрузкой в 12000 Н или напряжениях 200 МПа). По некоторым данным, на сегодняшний день более 1 млн протезов бедра было имплантировано с шаром из окисла алюминия в качестве бедренной головки, и это число растет по крайней мере на 100 тыс. в год.

Клинические исследования показывают, что скорость износа окисла алюминия / UHMWPE приблизительно в 10 раз ниже скорости износа (200 мкм в год) сплава Co – Cr – Mo / UHMWPE. Скорости износа протезов из окисла алюминия составляют всего лишь около 2 мкм в год.

Благодаря умеренной прочности на изгиб и жесткости размер бедренных головок из оксида алюминия ограничивается 32 мм и больше. Более высокая трещиностойкость, прочность на изгиб и более низкий модуль Юнга делают оксид циркония медицинской марки (ZrO_2) привлекательным вариантом для производства более маленьких бедренных головок.

Беспокойство о долгосрочном выживании оксида циркония в физиологической среде по сравнению с 30 годами успешного клинического использования оксида алюминия затрудняет принятие решения об использовании этих двух материалов одновременно.

Третья альтернатива либо металлической, либо керамической бедренной головки заключается в том, чтобы изготовить керамическое покрытие на поверхности специально спроектированного металлического сплава. Это возможно путем превращения головки из сплава циркония (97,5 % Zr и 2,5 % Nb) в керамику посредством нагревания в окисляющей атмосфере для выращивания очень тонкого, жесткого, износоустойчивого окисленного керамического слоя. Производитель этого изделия заявляет, что окисное покрытие почти в 5000 раз более устойчиво к трению и царапинам по сравнению с металлической головкой и должно создавать значительно меньше частиц отходов износа UHMWPE, поскольку покрытие в 160 раз более гладкое, чем металлические головки.

12.6. Замена коленного сустава

Протез всего коленного сустава состоит из бедренного, большеберцового и / или надколенного компонента. По сравнению с бедром колено имеет более сложную геометрию и биомеханику движения и по своей природе не является стабильным. В нормальном колене центр движения контролируется геометрией связок. По мере движения колена связки вращаются на своих костных соединениях, при этом перемещается и центр движения. Эксцентриковое перемещение колена помогает распределить нагрузку по всей поверхности сустава.

Протезы для полной замены колена можно классифицировать по тому, как их стабильность зависит от связок. *Ограниченные имплантаты* имеют петельное сочленение с фиксированной осью вращения и показаны, когда отсутствуют все связки, например при реконструктивных процедурах по поводу опухоли.

Полуограниченные протезы контролируют заднее смещение большой берцовой кости на бедренной кости и среднебоковое искривление колена, но полагаются на оставшиеся связки и суставную капсулу, которые обеспечивают остальное ограничение. Полуограниченные протезы колена часто используются для пациентов с серьезными увечьями конечностей или для пациентов, требующих ревизионного хирургического вмешательства, когда развилась умеренная нестабильность связок.

Неограниченные имплантаты обеспечивают минимальное ограничение или не обеспечивают ограничения вообще. Протезы, обеспечивающие минимальное ограничение, требуют иссечения задней крестообразной связки во время имплантации, и протезное ограничение воспроизводит то, что обычно обеспечивается этими связками. Протезы, не обеспечивающие ограничения, сохраняют заднюю крестообразную связку. Эти имплантаты показаны пациентам, у которых имеется дегенерация сустава при минимальной нестабильности либо без нестабильности связок.

Поскольку степень ограничения увеличивается с заменой колена, потребность использовать бедренные и берцовые интрамедуллярные удлинения протеза становится больше, так как нагрузки, обычно разделяемые вместе со связками, передаются стыку протез – кость.

Существует пять типов наиболее часто используемых коленных протезов:

- тип I – петельный;
- тип II – ограниченный;
- тип III – однокомпартаментный;
- тип IV – менисковый несущий;
- тип V – восстановление мышцелковой поверхности.

12.7. Замена сустава лодыжки

Замена сустава лодыжки не имела такого успеха, как полная замена бедра и колена, поскольку протез может ослабляться в течение нескольких лет службы. Это главным образом связано с высокой потребностью передачи нагрузки на относительно малой площади поверхности лодыжки, а также с необходимостью замены трех сочленяющихся (суставных) поверхностей (большеберцовой, таранной и малоберцовой). Использовались цилиндрическая, обратноточилindrical и сферическая конфигурации сустава. Для создания

суставов лодыжки обычно используются такие материалы, как сплав Со – Сг и UHMWPE. Дегенеративные изменения сустава лодыжки в настоящее время лечат путем спайки (фузии) сустава, поскольку считается, что протезы для полной замены лодыжки находятся на начальных этапах разработки.

12.8. Замена сустава плеча

Протезы для полной замены сустава плеча состоят из плечевого и ключичного компонентов. Так же как бедренный стержень, плечевой компонент можно разделить на головку, шейку и вал. Колебания длины шейки приводят к изменениям длины конечности. Поскольку восприятие длины верхней конечности у пациента не является таким же точным, как восприятие нижней, используются различные длины шейки для тонкой настройки натяжения мягких тканей, получения максимальной стабильности и диапазона движения.

Плечо имеет самый большой диапазон движения в организме, что является следствием малой глубины шарового соединения, допускающего комбинацию вращения и скользящих движений между поверхностями сустава. Плечо имеет сложную структуру капсулы и связок, обеспечивающую базовую стабилизацию. Однако тампонада мышц плеча обеспечивает дополнительную динамическую стабильность. Уменьшение радиуса кривизны имплантата для компенсации нестабильности мягкой ткани приводит к уменьшению диапазона движения. Статистически значимой разницы между цементированными и нецементированными системами протезирования сустава плеча не имеется.

Предыдущее состояние пациента и соответствующие дефекты мягкой ткани – это основные факторы успеха плечевого протеза. Как показывают исследования, неограниченная полуартропластика или неограниченная полная артропластика являются предпочтительными при плечевом протезировании.

12.9. Замена локтевого сустава

Локтевой сустав – это сустав петельного типа, главным образом обеспечивающий сокращение и вытягивание, но имеющий полицентричное движение. Имплантаты локтя имеют петли, являются полуограниченными или неограниченными. Эти имплантаты, как и имплантаты лодыжки, имеют вы-

сокий процент выхода из строя и обычно не используются. Высокая степень ослабления является результатом высоких моментов вращения, ограниченных костных запасов для фиксации и минимальной поддержки связок. В отличие от хорошо функционирующей фузии лодыжки, фузии локтя приводят к умеренной степени потери трудоспособности. Все типы локтевых протезов обеспечивают заметное улучшение качества жизни, уменьшают боль и расширяют диапазон движения.

Выходы из строя локтевых протезов являются малораспространенным явлением (10–15 %) для большинства типов имплантатов, однако процент осложнений составляет от 30 до 80 %. В настоящее время имеющихся данных недостаточно для установления статистически значимых различий между типами используемых протезов.

12.10. Замена суставов пальцев

Замена суставов пальцев подразделяется на три типа: петлевая, полицентрическая и заполнители пространства. Наиболее широко используются заполнители пространства. Эти устройства изготавливаются из высокоэффективного силиконового каучука (полидиметилсилоксана) и стабилизируются методом пассивной фиксации. Этот метод зависит от создания тонкой волоконной мембраны между имплантатом и костью. Эта фиксация может обеспечивать только минимальную жесткость сустава. В литературе зафиксированы случаи износа имплантата и холодный поток, связанный с эрозивными кистозными изменениями смежной кости при использовании силиконовых имплантатов. В последнее время разработаны суставы пальцев из пироуглерода с перспективой улучшения клинического успеха для пациентов, страдающих артритом суставов.

12.11. Протезирование межпозвоночных дисков

Фузия сегмента позвоночного перемещения при заболевании, выражающемся в разрушении диска, увеличивает жесткость в стабилизированном сегменте и напряжение на смежных уровнях. Результаты позвоночной фузии непредсказуемы. Она может привести к дальнейшему разрушению смежных позвоночных уровней. Для уменьшения отрицательных последствий процесса фузии разработаны протезы искусственного диска, аналогичные по замыс-

лу полной замене сустава, рассматриваемой выше. Эти конструкции хотя и находятся в зачаточном состоянии, но охватывают весь спектр конструкций, начиная от гибких полимерных вставок до шаровых соединений или конструкций петлевого типа.

13. Искусственные органы

Если не найдена замена жизненно важным органам, вышедшим из строя, то это приводит к смерти человека. Заменой может служить либо трансплантат от другого человека, либо искусственный, созданный человеком орган. Использование трансплантатов связано с такими недостатками, как ограниченные запасы трансплантатов и проблемы с иммуноотторжением. Для противодействия этому вводятся подавляющие иммунитет препараты, которые должны приниматься в течение всей жизни. Эти препараты являются дорогостоящими и имеют серьезные побочные эффекты. Органы для замены, «готовые к применению», обеспечивают множество преимуществ, например хирургические процедуры в этом случае занимают меньше времени, сокращаются очереди на операции, а служба здравоохранения экономит деньги. Однако наши жизненно важные органы сложны, поэтому их трудно изготовить из искусственных материалов. *Все искусственные органы выполняют только ограниченные функции.*

Другие органы, в частности органы чувств, часто нуждаются в восстановлении, так же как и кровеносные сосуды, питающие их. За последние 30 лет биоинертные материалы стали использоваться в обычной практике для замены более 40 различных частей организма человека. В настоящем разделе обсуждается состояние проблемы замены органов на искусственные органы, при этом первой рассматриваемой темой является замена жизненно важных органов.

13.1. Печка

Печка была первым органом, для которого была создана *искусственная замена* – аппарат диализа, изобретенный Кольфом в 1940-х годах. Почки поддерживают равновесие состава крови, контролируя давление, объем и кислотность крови, регулируя концентрации химических веществ, синтезируя гормоны и исполняя роль фильтров. Почки могут быть повреждены вслед-

ствие наследственных дефектов и заболеваний, инфекций, травм или токсинами. Удаление почками продуктов обмена и воды – это слишком сложный процесс, чтобы его можно было имитировать. Диализ – это одновременная диффузия и фильтрация, отличающиеся от естественной функции почек; он является более простым, но очень эффективным. Диализ – это эффективный и спасительный раствор, но он не идеален при почечной недостаточности. Аппарат диализа удаляет мочевины и неизрасходованные питательные вещества (такие как вода, сахара и соли) из крови, заменяя этим функцию естественной почки. Однако естественная почка перенаправляет неиспользованные питательные вещества обратно в организм. Этот процесс диализа выполнить не может. В среднем пациент подвергается гемодиализу три раза в неделю, длительность сеанса составляет 5–6 часов.

Девид Хьюмз, работающий в Университете штата Мичиган, разрабатывает биоискусственную почку. В устройстве сочетается обычный патрон-гемофильтр и биореакторная камера, содержащая устройство стимуляции почечного канальца, включающее 10^9 клеток почечного проксимального канальца. Эта биоискусственная почка направляет питательные элементы по трубкам, обложенным почечными клетками, повторно поглощающими полезные питательные вещества и отсылающими их через пористые стеки трубок в кровь. Устройство проходит самые первые клинические испытания, но для проведения этих процедур пациенту все равно необходимо приходить в клинику.

13.2. Сердце

Болезни сердца – это самая главная причина смертности мире. Сердце сильно страдает от «образа жизни», связанного со стрессами, загрязнением окружающей среды, избыточным потреблением алкоголя, питанием с высоким содержанием холестерина. Функция сердца заключается в том, чтобы перекачивать кровь по организму. В крови содержатся кислород и питательные вещества, жизненно важные для всех тканей и органов человека.

Искусственным сердцем предыдущего поколения был Джавик-7, который представлял собой четырехкамерный полиуретановый агрегат с двумя диафрагменными насосами и четырьмя механическими клапанами. Аппарат быстро подсоединялся к организму, но был рассчитан на срок службы 4–5 лет и предусматривал использование проводов, проходящих через кожу

пациента к внешнему аккумулятору. В 1980-х годах Джавик-7 проходил клинические испытания, но не добился долгосрочного успеха, хотя и служил в качестве запасного сердца для поддержания жизни пациента в течение короткого периода времени (1 неделя), пока он ожидал трансплантата.

Первое полностью пересаженное сердце было имплантировано Роберту Тулзу, 59-летнему американцу, в штате Кентукки, в июле 2001 г. *Устройство весом 1 кг, называемое АбиоКор*, имело размер грейпфрута и в настоящее время выпускается компанией «Абиомед Инк» (штат Массачусетс).

АбиоКор – это титановый и полимерный насос с питанием от внешнего аккумулятора, который пациент носит на плечах. Через кожу не проходит никаких проводов, что сокращает риск инфекции. Роберт Тулз умер через 4 месяца после операции из-за общего плохого состояния здоровья. В ходе клинических экспериментов имплантат был установлен еще 14 пациентам. Устройство не было признано непосредственной причиной ни одного случая смерти, и большинство пациентов прожили дольше, чем предсказывалось в их анамнезе до имплантации.

Более распространенные стратегии, направленные на борьбу с критическими проблемами сердца заключаются в замене клапанов, проведении операций по шунтированию (сосудистые трансплантаты) и в установке устройств стимуляции сердца, в частности насосов и кардиостимуляторов.

13.3. Легкие

Легкие обменивают двуокись углерода в крови на кислород. Каждое легкое содержит маленькие воздушные мешочки (альвеолы), подвешенные в сетке узких капилляров, позволяющих только одному эритроциту проходить по ним одновременно. Каждая клетка выделяет двуокись углерода и поглощает кислород через мембраны альвеол. Легкое содержит 40 различных типов клеток, структура которых является слишком сложной для того, чтобы ее можно было построить искусственно. Все функции легкого до конца не исследованы. Поэтому *в настоящее время разработаны только машины содействия дыханию и газообмену*. Во время хирургических операций кровь удаляется из организма, и пузырьковый или мембранный оксигенатор используется для введения кислорода в кровь и удаления двуокиси углерода, а также возвращения ее в организм. Недавно был разработан *имплантируемый катетер с источником кислорода*, который вставляется в полую вену (вену,

возвращающую кровь к сердцу) для оказания помощи пациентам с хроническими и острыми легочными заболеваниями. По мере того как кровь проходит через катетер, она вновь обогащается кислородом. Устройство может обеспечить взрослого человека половиной того кислорода, который нужен для дыхания продолжительностью до 2-х недель, поэтому оно полезно в качестве краткосрочного устройства помощи дыханию, пока естественные легкие восстанавливаются после травмы или заболевания.

13.4. Печень

Печень – это большой и сложный орган, состоящий из клеток, имеющих тысячи функций в зависимости от их расстояния от источника артериальной крови и различного содержания кислорода. Считается, что печень регулирует уровень жиров, углеводов, фактор свертывания крови, белковый обмен, синтезирует многие важные химические вещества и очищает кровь от токсинов. В настоящее время эти функции невозможно имитировать с помощью полностью искусственной конструкции. *Единственная функция, которая может быть имитирована – это детоксикация крови*. Она выполняется клиническими методами, в частности такими, как *плазмаферез*, который аналогичен диализу почек, и *криофильтрация*. При криофильтрации примеси и патогены выпадают в осадок из плазмы крови в гель при охлаждении плазмы. Однако обе методики требуют частых посещений клиники для выполнения процедур. *Поэтому единственным способом замены поврежденной печени является использование гибрида искусственной ткани / искусственного материала, т.е. конструкта, полученного посредством инжиниринга ткани*. Так же в поврежденную печень могут впрыскиваться *стволовые клетки*, которые регенерируют ее, восстанавливая первоначальное состояние и функцию.

13.5. Поджелудочная железа

Поджелудочная железа регулирует уровень глюкозы в крови. Островки эндокринных панкреатических β -клеток снижают уровни глюкозы путем увеличения уровней гормонов, открытия рецепторов глюкозы в клетках. Если поджелудочная железа не может синтезировать инсулин, клетки не усваивают глюкозу, и энергия берется из распада жиров, что вызывает тошноту у

большого и может привести к коме и смерти. Хронический дисбаланс глюкозы ведет к обезвоживанию и может вызывать слепоту, почечную недостаточность, сердечную недостаточность и нарушение кровообращения в ногах и ступнях, которое может привести к ампутации конечностей.

В 1969 г. в Университете штата Миннесота был разработан имплантируемый насос инсулина. Он был имплантирован под кожу верхней части тела и весил 300 г. Недавно Р. Ховоркой (Университете Сити, Лондон) был разработан экспериментальный образец искусственной поджелудочной железы, непрерывно подающей инсулин под кожу и поддерживающий глюкозу в крови на постоянном уровне. Он состоит из трех частей: датчика, устанавливаемого на кожу и измеряющего уровни глюкозы в крови; ручного портативного компьютера, анализирующего эту информацию; маленького насоса, впрыскивающего глюкозу в организм. Доктор Ховорка считает, что устройство должно быть достаточно маленького размера для того, чтобы мужчины могли устанавливать его себе на ремень, а женщины – внутрь бюстгалтера; он надеется, что изделие будет продаваться на рынке через 5 лет. Устройство функциональное, но не полностью имплантируемое, и некоторые пациенты, возможно, предпочтут пользоваться простыми уколами инсулина. Именно та часть устройства, которая представляет собой датчик, вызывает технологические проблемы.

Было бы идеально использовать β -клетки для производства соответствующего количества инсулина, действующего как детектор и как устройство контролируемого выпуска. Поэтому небольшое имплантируемое устройство – биологический / искусственный гибрид, содержащий живые клетки поджелудочной железы, является заманчивой альтернативой. Большой проблемой данного подхода является поддержание островков инсулинопроизводящих клеток поджелудочной железы в живом состоянии, защищая их от иммунной системы организма. В то же самое время клетки островков должны реагировать на изменяющиеся уровни глюкозы и вырабатывать необходимый инсулин.

Доктор Т. Десаи изготовила небольшую капсулу, используя технологию микромеханообработки (аналогичные технологии используются для производства силиконовых компьютерных микросхем), позволившую ей протравить поры с диаметрами, измеряемыми наноединицами, в силиконовой мембране, имеющей толщину бумаги. Это обеспечило контроль над количеством

пор, их местонахождением и размером. Поры были достаточно большие, чтобы пропускать небольшие по размеру глюкозу, инсулин и кислород, блокируя при этом более крупные иммунные компоненты. Компания IMEDD Inc. (штат Огайо) усовершенствовала первоначальную конструкцию с помощью двух силиконовых капсул, склеенных вместе с клетками островков между ними, а также с окном для пополнения клеток и с более надежным титановым корпусом. Новое устройство имеет размер приблизительно 5-копеечной монеты. В настоящее время задача состоит в том, чтобы заставить капилляры расти вокруг устройства. Улучшение сосудистой системы поможет быстрее доставить инсулин остальной части организма, а также увеличит транспорт питательных веществ, в особенности кислорода.

13.6. Кожа

Кожа – это самый большой орган в организме человека, который выступает в качестве барьера, сохраняя компоненты нашего организма внутри себя, а все остальное, включая бактерии, снаружи. Кожа имеет два слоя: эпидермис (внешний слой, который постоянно регенерирует) и дерму (внутренний слой). Дерма не регенерирует, а обеспечивает механическую поддержку для эпидермиса.

Наибольшая потребность в искусственной коже возникает после ожогов. Ожоги могут быть физической и социальной проблемой. Ожоги первой степени разрушают эпидермис. Ожоги второй степени разрушают оба слоя, но оставляют эпидермис вокруг волосяных мешочков, допуская определенную регенерацию в виде шрамов. Ожоги третьей степени разрушают всю кожу, обнажая жир и мышцы. Сильно обожженная кожа должна быть немедленно удалена, прежде чем на ней начнут размножаться бактерии.

Предпочтительным покрытием для ожогов является аутотрансплантат. Однако у пациента может оказаться недостаточно кожи для трансплантации. Кожа животных или кожа трупов сразу же отторгается организмом. Альтернативой является использование искусственных кожных повязок. Op-Site® (Acme United Corp.) – это прозрачная кислородопроницаемая полиуретановая пленка, которая подходит для ожогов первой степени. Biobrane® (Woodroof Inc.) – это силиконовая резина-нейлон, покрытая экстрактом коллагена и используемая для более серьезных ожогов. Эти кожные

повязки могут использоваться в течение двух месяцев, после чего требуется постоянное покрытие для уменьшения величины шрамов.

Клетки кожи можно выращивать в лаборатории для создания лоскутов кожи посредством технологии инжиниринга тканей. Однако эта процедура требует времени и поэтому не подходит для пострадавших от травмы пациентов.

Альтернативой является *двухкомпонентная искусственная кожа*, изготовленная из коллагена (белка) и полисахарида гликозаминогликана (GAG). Бычий коллаген «приклеивается» к GAG, чем уменьшает скорость рассасывания коллагена организмом. Два вещества располагаются в точной пенообразной архитектуре для имитирования слоев кожи с силиконовым верхним слоем. Склеенные лоскуты смачиваются и обматываются вокруг раны. После этого неодермис начинает вращаться во внутренний слой, по мере того как трансплантат начинает растворяться. Неодермис аналогичен дерме в том смысле, что он имеет хорошие механические свойства и содержит нервные клетки, но не содержит небольших кожных органов, таких как волосяные мешочки и потовые железы. Рост неодермиса и рассасывание искусственной кожи занимают приблизительно 3 недели, после чего хирург удаляет силиконовый верхний слой и трансплантирует кусок аутоотрансплантата эпидермиса размером с почтовую марку, регенерирующегося и покрывающего неодермис. Пересадки аутоотрансплантата можно избежать путем добавления эпителиальных клеток в мембрану коллагена-GAG до нанесения искусственной кожи, которые затем будут регенерировать эпидермис поверх неодермиса.

13.7. Ухо

Система уха преобразует звуковые волны в электрические нервные сигналы для дешифровки их мозгом. Слуховая система уха состоит из четырех разделов:

- 1) внешняя часть уха (ушная раковина) и воронка ушного канала передают звучание в направлении среднего уха;
- 2) среднее ухо содержит барабанную перепонку и три маленькие косточки. Косточки действуют как рычаги, усиливают и передают вибрации звука в отверстие внутреннего уха;
- 3) заполненное жидкостью внутреннее ухо (улитка) содержит тысячи маленьких звуковых рецепторов, называемых волосковыми сенсорными

клетками. Волосковые сенсорные клетки колеблются, когда распространяющиеся в жидкости звуковые волны достигают их;

4) тысячи нервных путей затем передают звуковую информацию от волосковых сенсорных клеток к слуховому центру мозга, который называется слуховой корой мозга.

Глухота может возникать вследствие врожденных дефектов, старения, травмы, инфекционных заболеваний, в частности менингита. Глухота может быть связана с дефектами в любой из четырех частей уха и классифицируется по той части, которая ее вызвала.

Кондуктивная глухота – это неспособность внешнего или внутреннего уха передавать звук и часто вызывает образование губчатой кости в среднем ухе, которая фиксирует косточки (отосклероз). Данное состояние *лечится благодаря применению слухового аппарата или хирургически с использованием протеза*.

Нейросенсорная глухота является следствием дефектов в улитке либо в результате повреждения волосковых сенсорных клеток (*сенсорная глухота*), либо в результате повреждения нервных волокон. *Повреждение нервных волокон лечению не поддается, но волосковые сенсорные клетки можно обойти с помощью улиточного имплантата*.

Центральная глухота, является менее распространенным недугом, возникающим в результате повреждения ствола мозга или слухового нерва, которое *не может быть вылечено посредством имплантата*.

Bioglass®, созданный в 1969 г., был первым искусственным материалом, присоединяемым к живым тканям. Хирурги-специалисты по болезням уха ранее вставляли другие типы имплантатов в среднее ухо, но они часто выходили из строя. В них использовались такие материалы, как металлы (титан, тефлон, платина, тантал) и пластмассы (пластикор), подобранные по признаку максимальной инертности и нетоксичности в организме. Когда биоинертные материалы имплантируются в организм, вокруг них образуется тонкий слой коллагена (шрам), изолирующий их от организма. Для некоторых клинических случаев шрам не представляет никакой проблемы, но для имплантата среднего уха он может означать катастрофу. Постоянное перемещение имплантата может привести к образованию отверстия в барабанной перепонке, а сам имплантат может провалиться через это отверстие, причинив барабанной перепонке необратимое повреждение.

Имплантат среднего уха Bioglass® позволил испытать новую концепцию восстановления органов человека – биоактивное склеивание. Специальный состав стекла содержал те же самые соединения, которые присутствуют в костях и жидкостях тканей: Na_2O , P_2O_5 , CaO и SiO_2 . Ионы, стимулирующие костные клетки, выходят из стекла после имплантации, и на поверхности стекла образуется слой апатита (фосфата кальция). Слой апатита аналогичен минералу кости, и между имплантатом и костью организма-хозяина образуется биоактивная связь. Теория, лежащая в основе биоактивных биомедицинских материалов, была готова к своему окончательному испытанию.

Тысячам пациентов был восстановлен слух с помощью биоактивных имплантатов среднего уха, *включая биоактивный композитный материал НАРЕХ®*.

Однако имплантаты среднего уха многим глухим пациентам помочь не могут. Они страдают глухотой из-за повреждения своего внутреннего уха. Волосковые клетки их улитки не способны преобразовывать механические вибрации звуковых волн в электрические импульсы, идущие к мозгу.

Во многих случаях нервы, идущие от волосковых клеток к мозгу, являются полностью функциональными, однако волосковые клетки повреждены или утрачены. В 1876 г. А. Белл преобразовал слова в электрические сигналы с помощью микрофона. Электрические импульсы прошли по проводу и были преобразованы громкоговорителем снова в слова. Был изобретен телефон. В настоящее время *имплантат «биоуха»* способен восстанавливать слух до такой степени, что пациенты могут вести разговор по телефону.

Имплантат улитки имеет три отдела:

1) микрофон и звуковой процессор, присоединенный к задней части ушной раковины, как обычный слуховой аппарат. Звуковой процессор преобразует звук в цифровую информацию и отправляет ее антенне передатчика, прижимаемой к боковой части головы магнитом;

2) имплантат, установленный внутри головы, но рядом с антенной, получает переданный сигнал и преобразует его в электрический сигнал, отправляемый затем на электрод во внутреннем ухе через маленькие провода;

3) комплекс электродов доставляет электрические сигналы через маленькие контакты (электроды) слуховому нерву, а слуховой нерв доставляет звуковую информацию мозгу, где она обрабатывается.

В настоящее время имплантаты улитки являются дорогостоящими, а их применение ограничено. Качество звука, стимулированного электродами, плохое (но постоянно улучшается), и общие результаты непредсказуемы. Слуховая реабилитация или терапия – это ключ к успешному применению имплантата улитки для многих реципиентов имплантата. Имплантат – это не лекарство от потери слуха, и он не может решить все клинические проблемы, способствующие глухоте. Для детей реабилитация является критической с точки зрения развития навыков речи. Данная методика вызывает также беспокойство, особенно в отношении детей, из-за долгосрочного воздействия металлических электродов на нервы, т.к. это путь к распространению инфекции и продуктов коррозии металла в мозг.

13.8. Глаз

Свет падает на роговицу (поверхность), где он фокусируется зрачком на кристаллической линзе, которая далее придает ему более точную фокусировку, с тем, чтобы лучи света получили форму конуса в узловой точке глаза. Радужная оболочка контролирует диаметр зрачка, управляя количеством света, пропускаемым в глаз. Как только лучи света проходят узел, они расширяются в зеркально отражаемый конус, проходя через желеподобное вещество, и фокусируются на сетчатке с задней стороны внутреннего глаза. Сетчатка состоит из светочувствительных нервных клеток (палочек и колбочек), передающих электронные сигналы по оптическим нервам зрительной зоне коры головного мозга, которая представляет собой два маленьких участка в нижней задней части мозга. Если зрительная зона коры головного мозга повреждена, зрение может быть потеряно, даже если глаз и зрительный нерв являются полностью функциональными.

Весь процесс видения предмета занимает 0,01 с, что гораздо быстрее, чем время обработки изображения фотоаппарата самым быстрым компьютером.

Каждый год несколько тысяч человек теряют зрение из-за повреждения роговицы в результате болезни или химических ожогов. Трансплантация является обычной процедурой, но, если донора найти нельзя, может быть ис-

пользован *синтетический «проникающий» протез*. Имплантат – это цилиндрическая линза с юбкой из тефлона, вставляемая в щель роговицы. Имплантат покрыт надкостницей (специальной соединительной тканью, являющейся источником коллагена) и конъюнктивной мембраной, которая подстилает веко.

На протяжении 40 лет предпринимались *попытки восстановления зрения посредством передачи электрических сигналов на зрительную зону коры головного мозга*. Воздействие заключается в том, чтобы создать яркие пятна света (фосфины) в сознании. Пятна перемещаются, образуя изображение посредством передачи электрических импульсов различным электродам. Изображение походит на электронное табло или на телевизионное изображение очень плохого качества. Однако из-за безопасности пациентов восстановление зрения путем электрической стимуляции по-прежнему остается экспериментальным методом. *Функциональный имплантированный искусственный глаз – это дело далекого будущего*.

Тем не менее, ежегодно зрение восстанавливается более чем миллиону пациентов в результате *операций по удалению катаракты*. Хирург вставляет в глаз *интраокулярную линзу*. Свет фокусируется линзой из биоинертного полимера имплантата. Линза закрепляется с помощью гибких полимерных петель. Поскольку внутри глаза перемещение небольшое, интраокулярная линза стабильна, и процент успеха очень высокий на многие годы.

Ученые Массачусетского технологического института и Массачусетской клиники глаза и уха разрабатывают имплантат глаза, который смог бы восстановить зрение пациентам, страдающим заболеванием сетчатки, включая дегенерацию желтого пятна (возрастное заболевание, являющееся основной причиной слепоты). *Имплантат сетчатки* будет включать две силиконовые микросхемы. Одна обеспечивает солнечную энергию и обрабатывает изображение окружающей обстановки пациента, снятое миниатюрным фотоаппаратом, установленным в очках. Другая будет расшифровывать информацию изображения, и передавать электрические импульсы рецепторным клеткам сетчатки, доставляющим зрительные сигналы мозгу. Поэтому, по мере увеличения мощности компьютеров по обработке данных и уменьшения размеров процессоров, станет возможным создание искусственного глаза.

13.9. Нос

Разработаны *бионические носы*, преобразующие запах в электронные сигналы. Бионические носы представляют собой машины, а не части тела. Кроме того, они необязательно предназначены для применения в организме человека, а скорее используются в качестве детекторов, например для контроля качества и свежести продуктов или установления соответствия партий химических веществ или парфюмерных изделий. На нюхающем конце устройства вакуумный насос затягивает воздух, пропускаемый через пары термисторов, покрытых запахопоглощающим материалом. Когда происходит конденсация, температура на термисторе несколько повышается, отсылая электронный сигнал на компьютер. Используемые поглощающие материалы – это материалы, которые можно обнаружить в обонятельном эпителии носа (жиры, белки и углеводы).

13.10. Гортань

Гортань – это полый хрящ в верхней части трахеи. Ей свойственно три функции. Во-первых, она защищает трахею, предотвращая удушье при глотании. Во-вторых, она выступает в роли клапана, позволяющего нагнетать давление в легких, благодаря чему мы можем поднимать тяжелые предметы. В-третьих, она создает голос за счет вибрации голосовых связок, после чего ротовой аппарат формирует слова.

В результате такой болезни, как рак, может потребоваться удаление гортани и отвод трахеи к отверстию в шее (стома) для дыхания. Речь в этом случае возможна только с помощью мышц в пищеводе. Однако только 15 % пациентов добиваются хорошей речи таким образом. Для облегчения речи, создаваемой посредством пищевода, может использоваться *T-образный протез Blom-Singer*. Полый стержень протеза соединяет трахею с пищеводом через отверстие, проделанное в задней части трахеи. Протез действует как клапан, пропускающий воздух в пищевод, но не позволяющий жидкостям и твердым веществам поступать в трахею. Перевернутая резиновая диафрагма запускает воздух при вдыхании и не допускает потерю воздуха через стому во время выдыхания, так что создаваемый пищеводом голос направляется в ротовую полость.

Имеются *электронные гортани*, в частности такие, как *Servox Inton*. Они включают вибрирующий электронный звуковой источник, приводимый в действие нажимной кнопкой. Когда он плотно прижат к шее, он передает звук в ротовую полость. Этот звук может быть сформирован в речь, когда человек выговаривает слова. У данных устройств часто имеется вторая кнопка, способствующая выработке интонации.

Устройство будущего может иметь электроды, имплантированные в мышцы горла, которые будут подсоединяться к мини-компьютеру. Электроды будут записывать сигналы мышц, предшествующие акту речи. Сигналы вначале потребуются нанести на график и интерпретировать разработчиками для программирования устройства.

Большинство наших жизненно важных органов слишком сложны по своей функции и структуре, чтобы быть воспроизведенными при помощи обычных материалов и посредством сегодняшних биоинженерных технологий. Было бы идеально, если бы клетки в поврежденном органе можно было стимулировать к регенерации органа и к восстановлению его естественного состояния и функции, и, если такое стимулирование клеток в органе невозможно, должны быть введены новые жизнеспособные клетки. В настоящее время развивается новая инновационная область, которая называется инжинирингом тканей, где стволовые клетки от пациента или из другого источника высеваются на каркас (шаблоны), изготовленный либо из искусственных биоматериалов (в частности биокерамики, ресорбируемых полимеров), либо природных материалов (например, коллагена). Клетки выращиваются на каркасах в биореакторе. Шаблоны обеспечивают необходимую трехмерную форму для роста клеток, и с течением времени материал растворяется, а клетки образуют живую ткань. Эта ткань затем имплантируется пациенту для замены пораженных болезнью или поврежденных тканей.

Применение искусственных механических имплантатов в течение жизни в настоящее время стало нормой. Каждый год от 4 до 5 млн запасных частей устанавливается в организм людей. Наше желание продлить срок жизни требует, чтобы мы использовали информацию, содержащуюся в каждом нашем уникальном наборе генов, для облегчения самовосстановления с помощью стволовых клеток. Достижение регенерации тканей – это средство выполнения данной задачи. В настоящее время это возможно только в лабораторных условиях. Задача заключается в том, чтобы добиться регенерации тканей на пациентах, тем самым проторив путь к совершенно новой форме медицины.

14. Транспорт веществ в искусственных органах

В настоящем разделе дается описание некоторых факторов, лежащих в основе эффективной работы имплантатов и экстракорпоральных устройств. Будут проанализированы физические принципы транспортировки веществ либо в нормальной ткани, либо в тканях, ассоциированных с устройствами. Конструкты, полученные путем инжиниринга тканей, являются особым случаем, поскольку живые клетки внутри них требуют создания нормальных обменных процессов, аналогичных тем, которые происходят во всех других тканях.

Одноклеточные организмы и самые простейшие многоклеточные организмы живут, поскольку диффузия веществ может происходить достаточно быстро, так что метаболиты поступают в клетки с такой же скоростью, с которой они используются, а продукты обмена выходят из клеток, не накапливаясь. Решение уравнений диффузии показывает, что диффузионный транспорт очень маленькой молекулы кислорода в воде на расстояние 1 см требует приблизительно 16 ч, а на расстояние 1 мм – около 8 мин. Такие скорости были бы совершенно неадекватными для метаболизма более крупных организмов. Следовательно, все крупные организмы (даже растения) имеют дополнительные механизмы для перемещения жидкостей и доставки метаболитов ближе к клеткам. В этом контексте полезно различать «конвективный» транспорт и «диффузный» транспорт под давлением, которые являются следствием свойственного этим процессам молекулярного движения. В строгом термодинамическом смысле эти механизмы являются эквивалентными, поскольку и тот и другой связаны с минимизацией свободной энергии в системе.

14.1. Конвективный транспорт

У более крупных животных сердечно-сосудистая система является первичной системой конвективного транспорта. Движение крови в различных сосудах обеспечивается главным образом посредством давления, создаваемого миокардом. Однако возврат по венам (возврат лишенной кислорода крови по венам и венам в сердце), поток лимфы и большая часть жидкости во внеклеточных пространствах, находится под сильным влиянием движения тела. Физические механизмы, лежащие в основе конвективной транспорти-

ровки, важны не только для понимания движения жидкости внутри организма, но также для конструирования многочисленных экстракорпоральных устройств, в частности таких, как газообменники и диализаторы.

Интересно, что самый простейший закон, описывающий поток жидкости в трубах, был выведен приблизительно в 1840 г., когда Жан Пуазейль пытался понять гемодинамику (независимо от него приблизительно в то же время этот закон был открыт Готхильфом Хагеном).

Уравнение Пуазейля устанавливает отношение потока жидкости к давлению, необходимому для приведения потока в движение, и выражается следующим образом:

$$\Delta P = P_1 - P_2 = \frac{128 \cdot \mu \cdot L \cdot Q}{\pi \cdot d^4},$$

где ΔP – перепад давления в трубке;

P_1 и P_2 – величины давления на верхнем и нижнем конце трубки;

μ – вязкость жидкости;

L – длина трубки;

Q – скорость потока жидкости;

d – диаметр трубки.

Данное уравнение может быть переписано относительно скорости потока жидкости, поскольку для трубки круглого сечения $Q = \bar{U} / \pi r^2$, где \bar{U} – средняя скорость; r – радиус трубки.

Уравнение Пуазейля может применяться при узкоограниченных условиях:

- ❖ поток должен быть равномерным (не меняться во времени);
- ❖ поток должен быть полностью развившимся (в стороне от входов, прерываний, поворотов);
- ❖ трубка должна быть однородной.

Такие условия фактически никогда не выполняются в организме или сконструированных системах, однако уравнение все-таки остается полезным для получения ориентировочного представления о давлении и потоках во многих ситуациях. *Прогнозируемое изменение давления ΔP является применимым только для горизонтальной трубки.* В ином случае следует принимать во внимание воздействие силы тяжести.

Из уравнения Пуазейля можно получить *ориентировочную оценку гидравлического сопротивления системы*, которая выражается следующим образом:

$$\frac{\Delta P}{Q} = \frac{128 \cdot \mu \cdot L}{\pi \cdot d^4}.$$

Особенности закона Пуазейля. Частицы жидкости перемещаются потоками, параллельными стенкам трубки (аксисимметричный поток). Эти потоки можно наблюдать после впрыскивания красителя или частиц нейтральной плотности либо с помощью методов Доплера (ультразвук или лазерный свет). Как показано на рис. 39, распределение скоростей жидкости по трубке (скоростной профиль) имеет вид параболы.

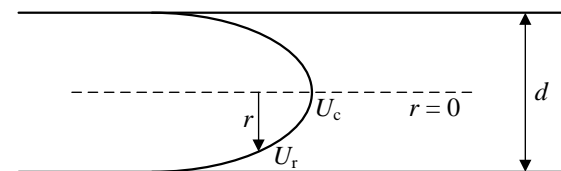


Рисунок 39 – Схема распределения скоростей в трубке

Скорость в любом положении выражается следующим образом:

$$U_r = 2\bar{U} \left(1 - \frac{r^2}{d^2/2} \right).$$

Данное описание лежит в основе перепадов давления, которые являются *особенностью потока жидкости*, поскольку различные потоки в трубке перемещаются с различными скоростями, и отсюда силы сдвига возникают между молекулами в различных потоках.

Коэффициент сдвига s – это скоростной градиент в любой точке внутри системы потока. В законе Пуазейля коэффициент сдвига является линейной функцией радиуса:

$$s = \left(\frac{dU}{dr} \right) = \frac{2U_c}{(d/2)^2}.$$

У оси (центра) трубки $s = 0$, а у стенки имеет максимальное значение.

Напряжение сдвига τ является произведением вязкости жидкости и коэффициента сдвига: $\tau = \mu \cdot s$.

Ньютоновская жидкость определяется как жидкость с постоянной скоростью, с нулевым коэффициентом сдвига при нулевом напряжении. В то время как свойства многих жидкостей близко приближаются к ньютоновским, этого нельзя сказать о крови, главным образом из-за ее клеточного состава. Напряжение сдвига может быть большим во многих системах и может иметь отрицательное воздействие на компоненты крови, например клетки крови могут разрушаться (лизис клеток).

На практике силы сдвига сильно зависят от микроскопической геометрии поверхности, по которой течет жидкость, и обычно необходимо включать эмпирический «коэффициент приближения», для того чтобы закон Пуазейля был применим. Коэффициент приближения будет влиять не только на перепад давления в трубке, но также и на силы сдвига, испытываемые жидкостью.

Отклонения от закона Пуазейля.

Входной поток. Если жидкость движется из неопределенного резервуара в цилиндрическую трубку, то у входа вся жидкость движется с одной и той же скоростью, и профиль скорости будет плоским. Однако поверхность трубки будет замедлять жидкость (состояние отсутствия скольжения), и скорость изменит первоначальный плоский профиль скорости, поскольку большее количество жидкости будет сдвигаться. Если жидкость является несжимаемой, то ее скорость в центре трубки должна затем увеличиться, поскольку скорость жидкости ближе к стенке трубки замедляется (закон сохранения массы). При этих обстоятельствах будет «полностью проявившийся» профиль потока.

Чтобы перейти от плоского к параболическому профилю скорости, жидкость подвергается ускорению (положительному в центре и отрицательному в направлении к стенкам). Ускорение требует дополнительного давления (сила на площадь) сверх того, что необходимо для поддержания потока Пуазейля. Следовательно, перепад давления и силы сдвига в районе входа будут усиливаться.

В районе, где вязкость влияет на поток, происходит сдвиг, и такой район определяется как *пограничный слой*. В районе входа пограничный слой

первоначально будет очень тонким, а если разовьется поток Пуазейля, он займет весь радиус трубки.

Число Рейнольдса (Re) – это мера соотношения между инерционными силами и вязкими силами в текущем потоке. Эта величина является безразмерной и определяется как

$$Re = \frac{U \cdot \rho \cdot d}{\mu},$$

где ρ – плотность жидкости.

Если $Re > 1$, в этом случае инерция преобладает в схемах потока, и вязкость определяет поток только рядом с границами, если $Re < 1$, то поток будет вязким. Неудивительно, что Re может показывать расстояние, на котором образуется пограничный слой, и поток Пуазейля, полученный из плоского профиля скорости, равен $0,03 \cdot Re \cdot d$, где d – это диаметр трубки. Район входа будет везде, где имеется прерывание в системе потока, будь то изменение в размерах трубки, ответвление или просто изменение в направлении.

Турбулентность. Если Re очень высокий, инерционные силы молекул жидкости допускают распад потоков жидкости, которые движутся параллельно стенкам. Затем молекулы жидкости начинают перемещаться произвольно в микроравихрениях, вызывая турбулентный поток. Это обычно происходит при значении выше «критического числа Рейнольдса», равного 2000. Поскольку микроравихрения характеризуются моментом инерции в радиальном направлении трубки, турбулентность вызывает притупление профилей скорости. Максимальная скорость будет в этом случае значительно меньше двукратной средней скорости. Однако микроравихрения и очень узкие пограничные слои будут ассоциироваться с большим сдвигом как внутри жидкости, так и у стенки. Таким образом, любое отрицательное воздействие на компоненты жидкости будет усиливаться. Сдвиг также приведет к значительно большей потере давления. Следовательно, по мере того, как жидкость, действующая на давление, протекающая через трубку, последовательно увеличивается, поток будет первоначально ламинарным, или безвихревым (соответствующим закону Пуазейля), где $\Delta P < Q$. После этого последует переходная зона, когда поток колеблется между ламинарным и турбулентным и, в конечном счете, между полностью проявившимся турбулентным районом, где $\Delta P < Q^2$.

Поток в сходящихся и расходящихся трубках. В однородных трубках потоки параллельны стенкам трубки. Для потоков с низким числом Рейнольдса, когда трубки расширяются, сокращаются или сгибаются, этого не будет происходить. Важно отличать эти сложные потоки от турбулентности, где путь индивидуальных молекул непредсказуем. Пока значения Re остаются относительно низкими, молекулы будут течь предсказуемыми потоками, даже несмотря на то, что у некоторых будут векторы, не параллельные стенкам.

Если поток движется из более широкой в более узкую трубку, как показано на рис. 40, его скорость будет увеличиваться, и закон сохранения массы требует, чтобы изменялось и давление.

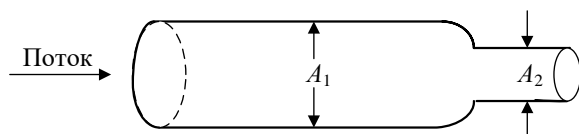


Рисунок 40 – Схема сходящейся трубки

Если мы рассмотрим две точки в трубке: 1 – против движения потока; 2 – по движению потока относительно преграды, то можно предположить, что средняя скорость равна первоначально U_1 и затем увеличивается до U_2 , при этом соответствующие значения давления равны P_1 и P_2 . Если жидкость является несжимаемой, тогда по закону сохранения массы: $U_1 \cdot A_1 = U_2 \cdot A_2$, где A_i – площадь трубки.

Если сделать допущение, что имеет место незначительная потеря вязкости, и согласно закону сохранения энергии получаем *уравнение Бернулли*:

$$1/2\rho U_1^2 + P_1 = 1/2\rho U_2^2 + P_2$$

Несмотря на отсутствие вязких эффектов, перепад давления происходит, поскольку $U_2 > U_1$ ($P_1 > P_2$). Перепад давления будет больше, чем падение давления в трубке при вязкостном распылении энергии, которое происходит в реальной жидкости и называется *эффектом Вентури*. Этот перепад может вызвать сплющивание трубки, увеличение давления газа снаружи трубки или кавитацию текущей жидкости.

Если трубка расширяется, могут быть применены те же самые принципы, но теперь $U_2 < U_1$, и поэтому $P_1 < P_2$, т.е. при отсутствии потери вязкостной энергии в направлении потока будет происходить увеличение давления. Это противоположно тому, что может произойти в однородной трубке. Если будет учитываться вязкостная потеря, происходящая в реальности, это приостановит увеличение давления; правда, рост давления может все равно происходить, если $A_2 \gg A_1$.

Если направление потока меняется менее чем на 5° , в этом случае потоки жидкости могут сходиться или расходиться равномерно. Но, если имеют место внезапные изменения, возникают более сложные схемы потока. В случае расходящегося потока от более узкой трубки к более широкой, растущее давление, возникающее вследствие эффекта Вентури, стремится замедлить поток. Пока имеется чистый перепад давления по всей длине трубки, инерция жидкости в центре трубки будет слишком большой, чтобы быть под значительным влиянием местного изменения давления, но рядом со стенками, где инерция низкая, направление потока может поменяться на противоположное. Реверсирование потока приведет к образованию завихрения или разделительной зоны рядом со стенками, в которой жидкость будет продолжать вращаться. Между разделительной зоной и точкой, где жидкость течет в нормальном направлении по ходу потока (точка повторного присоединения), будет точка застоя, где потока нет. Степень разделения будет увеличиваться с увеличением скорости потока, но турбулентные потоки будут разделяться более легко, чем ламинарные.

Когда жидкость переходит в более узкий район, местное ускорение жидкости, текущей в щель, будет вызывать перепад давления, который будет приводить к образованию разделительных зон в направлении против потока от узкого участка трубки. Потери высокого давления будут происходить в районе разделения из-за напряжений сдвига между движущейся вперед жидкостью и рециркулирующими потоками.

Маленькое отверстие в трубке, которая во всех других отношениях является однородной, будет иметь разделительные зоны как в направлении против потока, так и в направлении по ходу потока. При таких условиях эффективная площадь сечения для потока становится минимальной из-за сходящихся потоков (сокращающийся канал). Поэтому вытекающий поток имеет форму струи с очень высокими скоростями и высокими локальными

напряжениями сдвига. Струя может стать турбулентной и таким образом увеличить потери энергии.

Поток в изогнутых трубах. Когда поток входит в изгиб трубы, векторы скорости изменяются (векторы включают как величину, так и направление). Следовательно, жидкость должна ускориться под углом к главному направлению потока. Так же как в случае с размерами трубки, ускорение должно сопровождаться градиентом давления, и в этом случае оно будет действовать снаружи изгиба в направлении вовнутрь. Но быстро движущиеся молекулы, хотя они и испытывают тот же градиент давления, что и медленно движущиеся молекулы, будут меньше менять направление из-за своей большей инерции. Следовательно, быстро движущаяся жидкость будет перемещаться в направлении внешней части изгиба, но должна быть заменена медленно движущейся (с более низкой инерцией) жидкостью из зоны рядом со стенкой (см. рис. 41).



Рисунок 41 – Схема потока на изгибе в трубке

Радиальные компоненты потока называются *вторичными перемещениями*, и они могут оставаться на большом протяжении в направлении потока от изгиба. В пределах этого района входа радиальные напряжения сдвига будут все больше рассеиваться, и при отсутствии другого прерывания в полной мере установится снова полностью развившийся поток. Из-за искажения акси-симметричного потока в направлении внешней части изгиба будет иметь место гораздо больший сдвиг, чем в прямых трубках.

Углы и неблагоприятные градиенты давления могут вызвать разделение потока. Вторичные потоки могут сыграть важную роль в искусственных органах, в которых имеются теплообменники и обменники масс.

Стабильные и нестабильные потоки. В случае сходящихся и расходящихся потоков через препятствия скорость жидкости будет изменяться на величину, называемую *конвективным ускорением*. Однако поток не изменится со временем в любой конкретной точке трубки, и, следовательно, о нем говорят, что поток стабилен.

Если градиент давления изменяется со временем, жидкость будет испытывать локальное ускорение, вызывая образование нестабильных потоков. Это происходит у большинства насосов (например, случай сердца). Изменения давления в зависимости от времени могут быть выражены через угловую частоту колебаний (ω). В колеблющемся потоке влияние скорости на схемы потока зависит от периода колебаний, и толщина пограничного слоя в этих случаях может выразиться как $(\mu / \omega)^{1/2}$. Доля диаметра трубки, занимаемая пограничным слоем, составляет:

$$\sqrt{\frac{\mu}{\rho \cdot \omega}} \cdot \frac{1}{r}.$$

Обратная величина этого выражения определяется как *a* – *параметр частоты Уормсли*. Этот параметр показывает относительное значение инерции и вязкостных сил в определении движения жидкости во время колеблющегося потока. Когда *a* имеет низкое значение (незначительная инерция), то в этом случае поток будет совпадать по фазе с изменяющимся градиентом давления. Когда *a* имеет высокое значение, тогда движение жидкости не будет совпадать по фазе с градиентом давления, и будут проявляться более сложные схемы потока. Жидкость, находящаяся ближе всего к стенке, при минимальной инерции изменяет направление потока на противоположное раньше той жидкости, которая находится у оси.

14.2. Диффузный транспорт

Диффузия – это проявление внутреннего движения молекул (броуновское движение), происходящего во всех материалах при температурах выше 0 °C в абсолютных величинах.

Когда молекулярное движение быстрое (как в газе), диффузия будет происходить быстрее, чем когда молекулы ограничены в движении (как в случае твердого вещества). Следует отметить, что и диффузия, и теплопере-

дача зависят от броуновского движения и в действительности уравнения, используемые для описания этих явлений, аналогичны.

Если использовать термины термодинамики, то «пассивная» диффузия происходит, когда система движется в направлении состояния более низкой свободной энергии. «Активная» диффузия может происходить, только когда происходит ввод энергии для обеспечения движения (например, преобразование АТФ в АДФ в клетках). В целом основной силой для «пассивной» диффузии является уменьшение свободной энергии за счет увеличения энтропии (произвольности) системы, и это часто связано с передачей материала из района более высокой концентрации в район более низкой концентрации.

Когда *диффузия* в системе происходит при постоянной скорости, говорят, что она находится в *стабильном состоянии* и может быть выражена при помощи первого закона Фика:

$$J = D \cdot A \cdot \frac{da}{dx},$$

где J – поток (масса / время);

D – коэффициент диффузии;

A – площадь, на которой происходит диффузия;

a – активность диффундирующего материала;

x – расстояние, на котором происходит диффузия.

Активность определяется как $a = \gamma \cdot C$, где γ – коэффициент активности; C – концентрация (масса / объем). Для «идеальных» растворов $\gamma = 1$, допущение идеальности обычно делается для водных растворов.

Следовательно, разумное приближение уравнения Фика выражается следующим образом:

$$J = D \cdot A \cdot \frac{\Delta C}{x},$$

где ΔC – разность концентрации на расстоянии x .

Значение коэффициентов диффузии выражается уравнением Стокса – Эйнштейна:

$$B = \frac{k \cdot T}{6\pi\mu r},$$

где k – коэффициент Больцмана; T – абсолютная температура;

r – молекулярный радиус; μ – скорость среды, в которой происходит диффузия.

Для газов, диффундирующих в газовой фазе, $D \approx 2 \cdot 10^{-5}$ м²/с, но для газов или малых молекул, диффундирующих в воде, $D \approx 2 \cdot 10^{-5}$ м²/с из-за более высокой вязкости. Белки в воде имеют даже еще более низкий коэффициент диффузии, $D \approx 10^{-11}$ – 10^{-12} м²/с из-за их большого размера. Коэффициенты диффузии в тканях организма будут еще ниже из-за желеобразного характера жидкостей.

Большинство систем состоит из множества компонентов, например мембран, цитоплазмы, внеклеточной матрицы и т.д. В этих условиях необходимо *учитывать не только коэффициенты диффузии диффундирующей молекулы в каждом компоненте, но также и растворимость*. Для быстрой транспортировки необходимо, чтобы был одновременно и высокий коэффициент диффузии, и высокая растворимость. Для таких систем концентрации диффундирующего вещества в каждой фазе больше не являются приемлемыми для включения в уравнение Фика, и могут модифицироваться в следующий вид: C/a , где a – коэффициент растворимости (количество растворимого вещества на единицу объема растворителя). Например, когда кислород диффундирует в клетку, концентрация в мембране клетки выше, чем концентрация во внеклеточной или внутриклеточной жидкости, поскольку он приблизительно в пять раз более растворим в липидах, чем в воде. И наоборот, когда полярное растворимое вещество диффундирует в клетку, концентрация будет значительно ниже в мембране, чем в любой из двух его сторон. В общем, можно допустить, что если растворимое вещество исключено из материала, его активность может быть высокой, даже при очень низкой концентрации.

При рассмотрении диффузии газов обычно используется парциальное давление в качестве меры их активности. *Парциальное давление в растворе* – это количество, находящееся в равновесии с газовой фазой, содержащей этот вид газа при частичном давлении. Например, если говорят, что артериальный уровень O₂ равен 100 мм рт. ст., в этом случае кровь, находясь в контакте с газом, содержащим это парциальное давление, не получала бы и не теряла бы O₂.

Коэффициенты проницаемости. При рассмотрении диффузии материалов по сложным системам, в частности таким, как мембраны или ткани, часто бывает трудно определить растворимость и параметры (расстояния диф-

фузии и т.д.) каждого из компонентов. Для решения этих проблем удобно дать *определение коэффициенту проницаемости P* с помощью уравнения:

$$J = P \cdot A \cdot \Delta C,$$

где ΔC – разность концентрации по всей системе.

Для компонентов *при последовательном соединении*:

$$\frac{1}{P_{\text{общ}}} = \frac{1}{P_1} + \frac{1}{P_2} + \frac{1}{P_3} + \dots + \frac{1}{P_i},$$

где P_1, P_2, \dots, P_i – проницаемости каждого из слоев.

Для компонентов *при параллельном соединении*:

$$P_{\text{общ}} = P_1 + P_2 + P_3 + \dots + P_i.$$

Многие системы имеют пористые мембраны, например полые волокна, используемые в обменниках или биологических системах с межклеточными прорезями, волокнами и т.д. Если A_p – это площадь поверхности, занимаемая порами, тогда поток выражается следующим образом:

$$J = D \cdot A_p \cdot \frac{da}{dx}$$

Если размеры пор (радиуса R), имеют тот же порядок величин, что и размеры диффундирующей молекулы (радиуса r), то эффективная площадь для диффузии будет ниже общей площади пор и равняться $\pi (R - r)^2$. Тогда:

$$\frac{A_{\text{эффективная}}}{A_{\text{геометрическая}}} = \left(1 - \frac{r}{R}\right)^2.$$

Осмоз. Осмос – это движение растворяемого вещества по его собственному градиенту активности. Однако данное движение может создавать давление, если жидкость движется в закрытое пространство. Осмотическое давление (Π) выражается следующим образом:

$$\Pi = R \cdot T \cdot \sum \Delta C_i,$$

где R – газовая константа;

C_i – молярная концентрация каждого растворенного вещества.

В жидкостях организма $\sum C_i = 290\text{--}300$ mM (mOsm), а лизис может происходить, когда $2 \cdot \Delta C$ падает ниже 250 mM. Это основная причина точного гомеостаза жидкости и концентраций солей в организме.

Осмоз будет происходить, только если движение растворяемых веществ ограничено относительно движения растворителя. Степень ограничения движения данного растворяемого вещества выражается с помощью ко-

эффициента отражения (σ). Для полного ограничения $\sigma = 1$, а для отсутствия ограничения $\sigma = 0$.

Тогда:

$$\Pi = R \cdot T \cdot [\sigma_1 \Delta C_1 + \sigma_2 \Delta C_2 + \dots + \sigma_i \Delta C_i].$$

Диффузия с реакцией. В некоторых случаях диффундирующая молекула вступает в химическую реакцию с другими веществами, которые она встречает. В таких ситуациях удаление диффузанта посредством реакции будет сохранять высокий градиент для диффузии. Например, кислород, диффундирующий в кровь в легких, реагирует с гемоглобином, результатом чего является то, что концентрация свободного O_2 остается на очень низком уровне. В этих условиях изменение концентрации в зависимости от времени выражается как сумма диффузионного потока и скорости реакции. Если скорость реакции большая, общая скорость будет определяться скоростью транспортировки. Если скорость реакции медленная, скорость транспортировки материала может определяться скоростью, при которой он удаляется посредством реакции.

Диффузия в нестабильном состоянии. Если концентрация молекулы изменяется в зависимости от времени, тогда ее градиенты будут меняться, и скорость диффузии не будет постоянной. Это может произойти, когда в организм вводится новый имплантат, впрыскивается препарат и т.д. На любом месте (x) внутри среды скорость изменения концентрации в зависимости от времени выражается как избыток диффундирующего вовнутрь материала по сравнению с диффундирующим наружу материалом.

Уравнение диффузии следующее:

$$\frac{dC}{dt} = \left[\frac{d}{dx} \left(D \cdot \frac{dC}{dx} \right) \right].$$

До тех пор, пока D не зависит от x , скорость изменения концентрации материала в месте x выражается вторым законом Фика:

$$\frac{dC_x}{dt} = D \frac{d^2 C}{dx^2}.$$

Решения этих уравнений могут быть сложными. Примером является диффузия после мгновенного введения материала в ткань в месте $x = 0$, дающая локальную концентрацию C_0 во время t_0 (см. рис. 42).

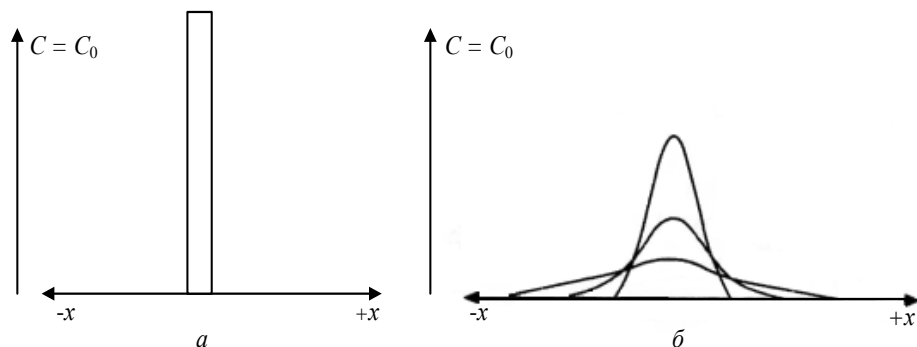


Рисунок 42 – Схематические графики, иллюстрирующие решения закона Фика: $a - t = t_0$; $b - t > 0$

Другим примером может быть диффузия от недавно пересаженного имплантата в окружающую ткань (см. рис. 43).

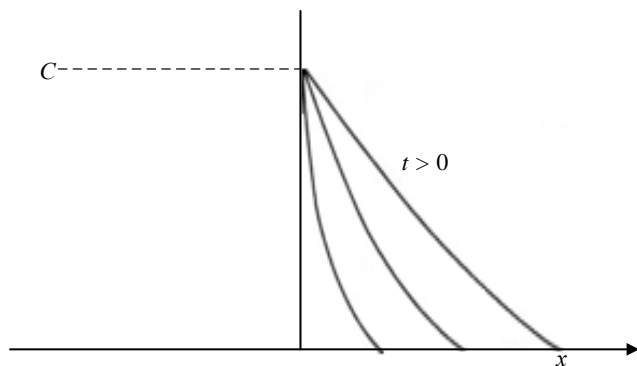


Рисунок 43 – Схематический график решения закона Фика для предмета, недавно имплантированного в ткань

Решение уравнений для этой ситуации показывает, что количество материала, диффундирующее через стык, уменьшается в зависимости от $r^{1/2}$ и что расстояние проникновения увеличивается в зависимости от $t^{1/2}$.

14.3. Взаимодействие конвекции и диффузии

Во многих ситуациях в организме и системах поддержания жизни транспорт материалов осуществляется посредством сочетания диффузионных и конвекционных процессов. Когда конвекционная и диффузионная транспортировка происходят в одном и том же направлении (или в прямо противоположных направлениях), общий поток может быть выражен в виде суммы: $J_{\text{диффузия}} + J_{\text{конвекция}}$, хотя существует вероятность того, что конвекция будет искажать градиенты диффузии (концентрации), таким образом между двумя выражениями будет происходить взаимодействие. Если пренебречь взаимодействием, поток на единицу площади растворимого вещества (J_s / A) в текущей системе можно выразить следующим образом:

$$J_s / A = P \cdot \Delta C + U_{\text{принудительная}} \cdot C_0,$$

где P – коэффициент проницаемости;

$U_{\text{принудительная}}$ – скорость, принудительно заданная конвекцией у растворимого вещества;

C – концентрация.

Для потока через *ограниченные системы* (например, ткани):

$$U_{\text{принудительная}} = U \cdot (1 - \sigma),$$

где U – местная скорость жидкости;

σ – коэффициент отражения, введенный выше при рассмотрении осмоса.

При *неограниченной диффузии* (большие поры или маленькие диффундирующие молекулы) $(1 - \sigma) \rightarrow 1$, в то время как для маленьких пор или больших молекул $(1 - \sigma) \rightarrow 0$.

Число Пекле (Pe) не имеет размерности и указывает относительные эффекты двух механизмов.

$$Pe = \frac{U \cdot (1 - \sigma) \cdot d}{D},$$

где d – характерная длина (в трубке или поре это будет диаметр).

Если $Pe > 1$, преобладает конвекция, в то время как если $Pe < 1$, наиболее важной является диффузия.

Когда силы, вызывающие диффузию и конвекцию, не параллельны, возникают более сложные явления, включая пограничный слой транспортировки масс, который появляется, когда материал диффундирует через проницаемую стенку в жидкий поток. При его диффузии в движущуюся жидкость

будет происходить конвекция в направлении движения потока и диффузия в радиальном направлении, т.е. в направлении от стенки.

В стабильном состоянии скорость диффузии в жидкость равняется скорости конвекции в направлении потока. Пограничные слои транспортировки массы будут также образовываться, когда растворяемое вещество диффундирует из текущей системы. В этом случае концентрация будет ниже в слое, чем концентрация в толще жидкости, и направленная наружу диффузия будет ограничена.

Развитие этих пограничных слоев транспортировки массы в значительной степени зависит от схемы потока и, в особенности от характера гидродинамического пограничного слоя. Можно доказать, что соотношение гидродинамического слоя с пограничным слоем транспортировки массы σ / σ_t , означающее *число Шмидта* (Sc) и выражаемое безразмерной величиной $(\mu / D \cdot \rho)^{1/2}$, является индикатором значения пограничного слоя транспортировки массы в ограничении потока. Для транспортировки в газовой фазе, $Sc \approx 1$, в то время как для маленьких молекул в воде $Sc \approx 10^3$, а для белков в воде $Sc \approx 10^6$.

14.4. Дисперсия

Материал, присутствующий внутри текущего потока, будет перераспределяться в зависимости от преобладающих схем потока. Например, если в трубку, в которой имеется поток Пуазейля, будет введен шарик, материал в центре будет конвектировать по течению со средней скоростью, в два раза большей, в то время как у стенки он будет практически неподвижен (состояние отсутствия скольжения). Следовательно, материал все больше и больше будет затягиваться в полосу потока длиной, намного превышающей ее диаметр. В результате произойдет изменение эффективной концентрации вдоль трубки. Аналогичное явление будет происходить, если две жидкости будут течь последовательно в трубках. Это происходит тогда, когда один раствор заменяется другим. Все это примеры *осевой дисперсии*.

Любая диффузия материала будет видоизменять дисперсию. Частично будет происходить некоторая диффузия в осевом направлении, вперед в поток, но будет также иметь место радиальная диффузия, от более быстро движущейся жидкости в более медленно движущуюся жидкость, и наоборот. Та-

кая диффузия будет препятствовать осевой (продольной) дисперсии материала и будет затуплять стык.

В потоке Пуазейля дисперсия материала может быть описана посредством эффективной диффузивности K , которая выражается следующим образом:

$$K = \frac{(U \cdot d)^2}{192D} + D.$$

Отклонения от потока Пуазейля, в частности такие, как вторичные потоки, вызывают более радиальное движение в текущем потоке и, следовательно, способствуют «конвективному смешиванию» материала. В турбулентном потоке микровихрения обеспечивают наличие малой осевой дисперсии. Зоны рециркуляции будут также искажать дисперсию.

15. Искусственные системы обмена

Во многих областях медицины используются различные системы для доставки материала организму либо для удаления нежелательного материала. Системы доставки включают капсулы, которые могут имплантироваться в любом месте, хотя, как правило, они имплантируются подкожно. Эти капсулы позволяют медленно подавать препарат в течение продолжительного периода времени и исключать, например, необходимость в многочисленных инъекциях, поддерживая постоянный уровень препарата без колебаний концентрации между повторяющимися введениями препарата. Скорость подачи препарата зависит от его состава внутри капсулы и от свойств самой капсулы. Капсула может быть непрерывной или пористой оболочкой, и ее толщина и состав могут контролироваться.

Любые имплантаты вызывают реакцию ткани, поэтому при их конструировании следует учитывать, например, какое количество волокнистой ткани будет образовываться на месте шрама. Эти реакции, безусловно, будут оказывать воздействие на скорость подачи препарата.

Расширением такого метода терапии является *использование имплантируемых насосов для доставки препарата*, которые могут подавать материал дистанционно через катетер, например в полость позвоночного канала для уменьшения боли. Преимуществом такой системы является возможность ис-

пользования программируемых насосов, позволяющих устанавливать соответствие между доставкой и потребностью пациента. Достигнут определенный прогресс в области применения в этих устройствах микроэлектромеханических систем (MEMS), а также в использовании микробионики и миниатюрных источников питания для управления скоростью подачи лекарства.

В других системах обмен может осуществляться внешними по отношению к организму устройствами. К этим устройствам относятся диализаторы, удаляющие излишнюю жидкость и продукты обмена из крови и / или токсины из брюшной полости; устройства афереза, используемые для сбора фракционированных компонентов крови, включая стволовые клетки; искусственные газообменники, как правило используемые для операций со вскрытием грудной клетки, они же могут применяться в качестве дополнения для неэффективно работающих легких.

Для всех этих устройств следует учитывать свойства используемых в них материалов и в особенности материалов, находящихся в контакте с тканями или жидкостями организма. К этим свойствам относятся: стерильность, токсичность, устойчивость к коррозии и другие аспекты биосовместимости. Существует особая обеспокоенность в связи с механическими свойствами компонентов, используемых в насосах, включая их прочность, соответствие требованиям и износостойкость.

В диализаторах и газообменниках (как и в устройствах кардиологической стимуляции) существует непосредственный контакт между кровью и чужеродными материалами. В этих случаях поверхности материалов должны быть высокоустойчивыми к свертываемости крови. Очень важно, чтобы в устройствах не возникали такие условия потока, которые могут вызвать свертываемость крови или повреждение клеток. Сюда входит исключение районов высокого сдвига и застоя. Для понимания этих вопросов большое значение имеет рассмотрение реологических свойств крови.

15.1. Основные определения

Алкалоз – аномальное увеличение щелочной реакции жидкостей организма.

Ацидоз – аномальное увеличение кислотности жидкостей организма, вызванное либо скоплением кислот, либо истощением биокарбонатов.

Аферез – процедура, при которой кровь забирается у донора и разделяется на компоненты, а остальная часть возвращается посредством переливания донору.

Гематокрит – соотношение объема эритроцитов к объему цельной крови. Определяется с помощью прибора для определения относительных количеств плазмы и клеток в крови.

Гиперосмотический – раствор, вызывающий потерю воды из жидкостей организма в результате осмоса.

Ишемия – локальная анемия ткани из-за перекрытия потока артериальной крови.

Кардиотомия – хирургическое рассечение сердца.

Мезентериальные сосуды – кровеносные сосуды близ брыжейки (любая из нескольких складок брюшины, соединяющая кишечник и стенку живота).

Перистальтический насос – насос, создающий перистальтическое движение, представляющее собой волнообразные сокращения, посредством которых происходит проталкивание содержимого.

Тромб – сгусток крови.

Эмбол – воздушный пузырь, отделенный сгусток крови или инородное тело, которые перемещаются по сердечно-сосудистой системе и застревают там, блокируя движение крови по сосудам.

Эритроцит – красная клетка крови.

15.2. Вязкость крови

Поток жидкости связан со сдвигом между частицами потока в смежных слоях. Твердые частицы в жидкой суспензии не могут двигаться легко. Следовательно, для данной скорости потока суспензии нужны большие усилия сдвига между частицами потока и отсюда более высокое принуждающее давление. По этим причинам даже относительно разбавленная суспензия из твердых частиц будет иметь гораздо более высокую вязкость, чем вязкость суспендированной жидкости.

Клетки крови (в частности, эритроциты) являются деформируемыми и поэтому, в отличие от твердых частиц, могут сами подвергаться сдвигу и претерпевать значительную деформацию. Кровь, следовательно, гораздо менее вязкая, чем суспензия твердых частиц при той же объемной

доле (35–55 %), и даже после центрифугирования, когда фракция эритроцитов имеет объемную долю около 97 %, они по-прежнему способны течь.

Вязкость крови непостоянна, кровь является неньютоновской жидкостью. В стационарной крови эритроциты могут образовывать агрегаты в виде столбиков клеток, которые разветвляются и создают желеобразную структуру по всему своему объему. В результате этого кровь ведет себя как «тело Бингама», и, прежде чем она начнет течь, необходимо, чтобы было приложено *конечное напряжение* (напряжение текучести). При низких напряжениях жидкость имеет высокую вязкость из-за присутствующих длинных цепей столбиков эритроцитов, но при увеличении напряжения эти столбики полностью распадаются, и вязкость достигает постоянной величины. Это *напряжение сдвига создает скорость сдвига*. Скорость сдвига ниже скорости, встречающейся в большинстве кровеносных сосудов организма, но соответствует скорости в расширенных венах, где поток крови может быть замедленным.

Для крови с нормальным гематокритом (45 %) вязкость может достигать до $6 \cdot 10^{-2}$ Па · с при очень низких скоростях сдвига, но падает примерно до $3 \cdot 10^{-3}$ Па · с при более высоких уровнях. Это всего лишь приблизительно в три раза больше вязкости для плазмы и доказывает *важность деформируемости клеток для эффективности потока крови*. У лиц, страдающих полицитемией (заболеванием, при котором в костном мозге образуется слишком много эритроцитов), асимптотическая вязкость может быть больше вязкости нормальной крови приблизительно на 50 %, и эта разница значительно больше при низком сдвиге. Основной причиной полицитемии является слабая функция легких, поскольку она компенсирует плохой газообмен. Поэтому, многие пациенты, нуждающиеся в поддержке газообмена, имеют наименее удовлетворительные свойства крови.

15.3. Воздействие сдвига на кровяные клетки

Кроме вязкости крови, также следует принимать во внимание воздействие сдвига на ее компоненты. При нормальном кровообращении напряжение сдвига даже у стенки кровеносного сосуда обычно меньше 10 Па, но оно может быть значительно выше при различных болезненных состояниях или в искусственных органах. Эритроциты, как указывалось, являются очень де-

формируемыми и очень легко сгибаются. Это главным образом связано с их дисковидной формой и очень большим отношением поверхности к объему. При напряжениях сдвига, равных 1–10 Па, клетки вращаются меньше, чем при более низком сдвиге, и стремятся выстраиваться так, чтобы их длинные оси становились параллельными потоку. Такая ориентация фактически имеет тенденцию уменьшать вязкость. При напряжении больше 10 Па клетки удлиняются, а при напряжении выше 160 Па мембраны клеток вытягиваются и разрушаются, вначале теряя ионы, а позднее гемоглобин, что вызывает гемолиз.

Даже при напряжениях сдвига меньше 10 Па тромбоциты могут давать утечку таких компонентов, как ADP и 5-НТ. Эти реактивы могут вызвать агрегацию клеток, которая ведет к коагуляции. Лейкоциты – это самые крупные клетки крови, и, следовательно, они испытывают наибольшее колебание величины сдвига на общей площади своей поверхности. Они могут высвобождать вещества в виде гранул и утрачивать свои хемотаксические свойства при напряжениях сдвига приблизительно 7 Па. Эти значения напряжения сдвига находятся в пределах нормального физиологического диапазона величин, наблюдаемых в организме. Но, к счастью, повреждение клеток зависит не только от величины напряжений сдвига, прилагаемых к ним, но и от его продолжительности. Для того чтобы возникло повреждение тромбоцитов и лейкоцитов при указанных выше уровнях, сдвиг должен быть продолжительным. Во многих случаях в организме, в насосах и в искусственных клапанах сдвиг может быть приложен только в течение очень короткого времени к любому элементу крови, и поэтому клетки могут выжить. Однако, некоторая степень гемолиза, а также тромбо- и лейкопения все-таки наблюдаются, в особенности, во время продолжительных процедур.

Так же как непосредственное воздействие на компоненты крови, гидродинамические напряжения сдвига могут модифицировать взаимодействие белков, лейкоцитов или тромбоцитов с поверхностями. Рудольф Вирхов в XIX столетии предположил, что *тромбоз может зависеть от «триады», т.е. свойств самой крови, поверхностей, с которой кровь контактирует, и потоков, омывающих эти поверхности*. Влияние изменения сдвига на образование тромбов может быть непредсказуемым, поскольку умеренные уровни сдвига могут замедлять взаимодействия между кровью и поверхностью,

в то время как более высокие уровни могут оказывать протромбическое влияние.

Для минимизации проблем, связанных с искусственными поверхностями, целесообразно покрывать твердые поверхности белком плазмы, например, грунтовать поверхности альбумином или склеивать их гепарином.

15.4. Взаимодействие крови и воздуха

Так же как компоненты крови могут осажаться на твердой поверхности, аналогичные процессы происходят, когда кровь вступает в соприкосновение с воздухом. Для уменьшения свободной энергии в системе снижается межповерхностное натяжение в местах соприкосновения между двумя фазами.

В отношении стыков кровь / газ имеются два важных последствия:

✓ у поверхности будут скапливаться белки, поскольку межмолекулярные силы между ними и воздухом больше, чем между водой и воздухом. Эта адсорбция уменьшает натяжение поверхности. Натяжение поверхности воды составляет $0,07 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-1}$, в то время как в случае плазмы оно находится в пределах $0,04\text{--}0,05 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-1}$. Конформация белков в растворе в значительной степени зависит от взаимодействия молекул с окружающей водой. На стыке конформация белков может изменяться, иногда это может вызывать иммунологическую реакцию;

✓ площадь поверхности будет сокращаться. Именно в этом и заключается причина, почему свободные пузыри имеют минимальное соотношение поверхность / объем и являются сферами. Поверхностные силы, действующие по окружности вокруг пузыря, могут быть преобразованы в касательный и радиальный компоненты. Радиальный компонент будет создавать давление внутри пузыря, которое превышает местное гидростатическое давление и обозначается $P_{\text{избыточное}} = 2\gamma / R$, где γ – межповерхностное (поверхностное) натяжение, R – радиус пузыря. Избыточное давление будет повышать частичное давление каждого из газовых компонентов, таким образом, они потенциально могут перейти в раствор окружающей жидкости. Давление водяного пара также возрастет, содействуя конденсации. Следовательно, сферический пузырь является по природе своей нестабильным, в особенности по мере уменьшения радиуса.

Однако в случае приложения отрицательных давлений (разряжения) к жидкостям они могут вызывать кавитацию, если давление больше давления пара жидкости и растворенных газов и избыточного давления, создаваемого поверхностным натяжением. Таким образом, в устройствах следует избегать низких давлений, в особенности потому, что белки сокращают натяжение поверхности и способствуют сепарации газа. Любые подобные пузыри могут стать причиной серьезных проблем, если они попадут в систему кровообращения организма. Если пузырь попадет в малый кровеносный сосуд, в частности капилляр, он не будет больше сферическим, а будет иметь избыточное давление из-за кривизны мениска.

Давление выражается как $P_{\text{избыточное}} = 2\gamma \cdot \cos\theta / r$, где θ – угол контакта между кровью и тканью стенки, а r – радиус сосуда. Поскольку радиус капилляра очень маленький, это давление будет очень большим, как правило, выше давления, создаваемого сердцем. Затем пузырь останется захваченным в капилляре, вызывая ишемию ткани ниже по ходу потока крови.

15.5. Поток крови в искусственных устройствах

Конструкция устройства, используемого внутри организма (например, клапан или насос), или в экстракорпоральной системе, неизменно предполагает оптимизацию различных конкурирующих факторов. Под этими факторами подразумеваются:

- ✓ размер компонентов, оказывающих влияние на объем крови;
- ✓ значения давления, которые необходимы или создаются;
- ✓ силы сдвига, возникающие в результате потока крови.

Например, маленькие трубки будут сохранять объем крови, но увеличивать необходимые движущие силы и для данной скорости потока будут увеличивать скорость и отсюда напряжения сдвига.

Если кровь течет по трубке диаметром 1 см со скоростью приблизительно 3 л / мин (ниже нормального сердечного выброса), число Рейнольдса (Re) равно 2000. Это считается критической величиной, выше которой невозмущенный поток превращается в турбулентный. Большее рассеивание энергии в турбулентном потоке будет иметь особенно отрицательное воздействие на давления и потоки.

Для создания искусственных устройств важную роль играет форма пространства, через которое течет кровь.

Сужение трубки. Соединитель между трубками, трубкой и насосом, обменником или фильтром может уменьшать площадь, через которую течет кровь. Повышение скорости не только увеличивает необходимое приводящее давление, увеличивает сдвиг, прилагаемый к крови, но также сопровождается падением давления (закон Бернулли). Это может приводить к захвату газа или кавитации.

Районы отсутствия потока. Внешние соединители могут оставлять зазоры или щели, в которых происходит застаивание крови. Продолжительное соприкосновение с поверхностью неизменно будет вызывать образование тромбов. Щели также создают пространства, где газовые раковины могут быть стабильными. Когда кровь входит или выходит из устройства через трубку, неизменно происходит большое изменение площади сечения. Эти районы особенно склонны становиться районами застоя.

Изгибы. Острая кривизна вызывает образование зон разделения при всех, кроме самых малых, значениях числа Рейнольдса. Хотя кровь в этих районах перемещается, она остается близ смежных поверхностей в течение продолжительных периодов времени, увеличивая риск появления тромбов. Однако умеренные изгибы способствуют развитию вторичных потоков, которые являются преимуществом в случае обменников.

15.6. Обменники

Это экстракорпоральные устройства, используемых либо для замены, либо для дополнения процессов обмена в организме. Сюда включено рассмотрение газовых и тепловых обменников, диализаторов и устройств афереза. Они предназначены для оптимизации потока материала между жидкостями организма и другими жидкостями, от которых они, как правило, отделены мембраной.

Процессы диффузии и конвекции должны быть оптимизированы для эффективного обмена. *Некоторые принципы касаются всех обменников и основываются на следующих принципах:*

1. Из законов Фика вытекает, что площадь обмена должна быть как можно большей. Этого можно добиться сворачиванием плоских мембран в спирали или использованием мембран в виде полых волокон; цилиндрические пучки больших количеств этих волокон могут быть расположены в виде

параллельных компонентов потока, подаваемых и сливаемых посредством коллекторов.

2. Поверхность обмена должна иметь как можно более высокую проницаемость. Требования в этом смысле в значительной мере зависят от свойств транспортируемого материала, но во всех случаях слой обмена должен быть тонким и иметь высокий коэффициент диффузии и растворимость для диффундирующих веществ.

3. Поток как крови, так и материала обмена должен быть оптимизирован. Каналы должны быть не такими узкими, чтобы вся жидкость располагалась относительно близко к поверхности обмена, и не настолько маленькими, чтобы требовать большего приводного давления для потока жидкости. Это было бы связано с увеличением повреждения сдвига. Резидентное время, в течение которого жидкости соприкасаются с обменником, должно соответствовать высокой степени происходящего обмена. Для достижения этого поток жидкости должен соответствовать объему устройства обмена и его проницаемости.

Условия потока должны также ограничивать развитие пограничных слоев транспортировки масс, таких, которые всегда препятствуют эффективному обмену. Для осуществления этого, предусмотрены, например, каналы, стимулирующие вторичные потоки, пульсирующий поток и геометрии микроскопических поверхностей, предотвращающие развитие осевых потоков. *Во всех обменниках некоторых преимуществ можно добиться, если обеспечить, чтобы кровь и жидкость обмена текли в противоположных направлениях* (системы контрпотока). Посредством этого можно оптимизировать градиенты диффузии во всем устройстве, и их значение не будет падать при сравнении значения на впуске со значением на выпуске.

Газообменники. Это средства, используемые для газообмена, включают пузыри и мембраны, которые могут быть непрерывными или пористыми. Газообменники необходимы при операциях со вскрытием грудной клетки, в особенности при операции на самом сердце. Они могут также использоваться для дополнения ограниченных функций сердца и легких. Необходимо не только наполнять кровь кислородом, но также удалять избыточный углекислый газ. Первого, как правило, легко добиться, поскольку лишенная кислорода венозная кровь может подвергаться непосредственному или косвенному воздействию чистого кислорода. Если принять, что давление кислорода (P_{O_2})

венозной крови обычно составляет 50–70 мм рт. ст., «приводящая сила» для обмена кислорода, как правило, равна 650–700 мм рт. ст. Давление углекислого газа (PCO_2) венозной крови составляет приблизительно 50 мм рт. ст., и, если кровь находится под действием чистого кислорода, в этом случае «приводящая сила» для удаления CO_2 значительно ниже приводящей силы кислорода. Контроль является очень важным, поскольку уровень выше приблизительно 55 мм рт. ст. вызовет ацидоз ткани, в то время как при уровне ниже 35 мм рт. ст. вызывается алкалоз. В обоих случаях функция обмена веществ будет ограничена. По этой причине необходимо контролировать рН крови, повторно входящей в организм пациента. Иногда необходимо включать в газ обмена небольшое количество CO_2 во избежание алкалоза.

Пузырьковые оксигенаторы. В этих устройствах газообмен происходит непосредственно на пленке между кровью / газом вокруг каждого пузыря. Кровь течет вверх или вниз по столбику, по которому пузыри газа перемещаются вверх под силой тяжести от разбрызгивателя в основании. Значительным преимуществом подобных обменников является то, что они обеспечивают огромную площадь поверхности для обмена с минимальными пограничными слоями, поскольку и кровь, и фазы газа перемещаются. Хотя они могут достигать более высоких градиентов диффузии для кислорода, чем для CO_2 , последний является значительно более растворимым в плазме и диффундирует из нее быстрее, чем кислород диффундирует в нее. Определенный контроль над скоростями относительной транспортировки может быть получен посредством изменения размера пузырьков, диаметр которых составляет обычно 30–50 мкм.

Основным недостатком пузырьковых оксигенаторов является то, что кровь постоянно образует новые стыки кровь – газ, которые могут быть вредными как для белков плазмы, так и для клеток. По этой причине пузырьковые оксигенаторы, хотя они и очень эффективные, используются только для относительно коротких процедур. Конечно, эти устройства требуют уловителей пузырьков, для того чтобы не допустить попадание газа в организм, а также реактивов для пеноудаления, увеличивающих натяжение поверхности плазмы и необходимых для предотвращения образования пены.

Мембранные оксигенаторы. В этих устройствах кровь не находится в непосредственном соприкосновении с газом, а отделяется от него мембраной. Мембраны должны быть достаточно тонкими (обычно 0,2–0,4 мкм) для мак-

симального увеличения градиента диффузии и растворимыми для газов. Для газообмена они неизменно изготавливаются из пластмасс (силиконы, полипропилен или силоксаны), в которых газы являются легко растворимыми. Поскольку они являются хрупкими и должны выдерживать перепад гидростатического давления между кровью и газом, им необходима опора на жесткий макропористый слой (поры с диаметром в микрометровом диапазоне), для того чтобы избежать повреждения. Для достижения адекватного обмена они должны иметь суммарную площадь, обычно равную 2–5 м², и для выполнения этого требования мембраны обычно скручиваются в спираль с пространствами для крови и газа, равными приблизительно 1–3 мм для минимизации сдвига и сопротивления потоку. В этих обменниках окна, посредством которых кровь входит и выходит, должны быть сконструированы таким образом, чтобы избежать застойных зон и обеспечить равномерное распределение крови по всей поверхности обмена.

Свойства некоторых материалов, которые использовались для обменных мембран, приводятся в табл. 10.

Таблица 10 – Обменные свойства некоторых материалов

Материал	Проницаемость, (Da)	PO_2 / PCO_2
PTFE	3	-
Полиэтилен	12	5
Целлюлоза	25	18
Силоксан	1000	5

Примечание: PO_2 / PCO_2 – соотношение проницаемости двух газов.

Высокое значение проницаемости (Da) показывает, что материал обеспечивает более эффективное насыщение кислородом, однако для полного обмена следует учитывать относительную проницаемость.

Пористые мембранные оксигенаторы. Могут быть изготовлены полимерные мембраны с многочисленными пораами диаметром 1 мкм или меньше. Мембраны могут изготавливаться из листов, но наиболее часто они изготавливаются из полых волокон. Пучки этих волокон включаются в цилиндрическое устройство, и кровь течет либо через внутренний канал волокна, либо через промежутки между ними, при этом газ идет по другому пути. Посколь-

ку многочисленные волокна опрыскиваются параллельно, сопротивление потоку и сдвиг, прилагаемые к крови, уменьшаются, даже, несмотря на то, что диаметр пространств для крови может достигать до 100 мкм. Есть подтверждения, что пограничные слои транспортировки масс уменьшаются, если кровь течет через промежутки, а не через волокна.

Силы поверхностного натяжения препятствуют прохождению крови через поры. Следовательно, газ осуществляет обмен на постоянном стыке газа / крови, который образуется, как только кровь входит в устройство, и поддерживается на протяжении процедуры. Таким образом, взаимодействие крови и газа сводится к минимуму.

Теплообменники. Во время некоторых хирургических процедур бывает полезно охлаждать организм для уменьшения скорости обмена веществ. Для того чтобы добиться этого, кровь пропускается по трубке, окруженной охлаждающим веществом. Как правило, трубка имеет форму катушки не только для уменьшения общих размеров, но также и для возбуждения вторичного перемещения в текущей крови и, таким образом, для достижения оптимального смешивания между кровью, соприкасающейся со стенками, и кровью в сердцевине. После окончания операции то же самое устройство используется для повторного нагревания крови.

Даже в тех случаях, когда охлаждение специально не требуется, теплообменник может использоваться в других обходных процедурах для замены потерянного тепла при циркуляции носителя по внешней системе.

Фильтры. Очень важно предотвратить прохождение эмбол, которые близки по размеру к эритроцитам, в нормальный кровоток организма. В противном случае они могут блокировать капилляры и приводить к ишемии, которая может быть особенно серьезной, если она происходит в нервной системе. Такие эмболы, как правило, напоминают небольшие тромбы, но также могут включать пузырьки газа, каждый из которых должен удаляться посредством фильтрации.

Фильтры должны обладать способностью отделять весь материал с частицами больше определенного размера и определенной мощности, с тем, чтобы если эмболы будут продолжать оседать внутри них в течение какого-то периода времени, оставалась достаточная площадь, через которую могла бы проходить кровь. Если этого не будет, давление в направлении против потока может подняться слишком высоко, а давление в направлении по ходу

потока может упасть до таких уровней, которые будут препятствовать разбрызгиванию.

Имеется два типа фильтров:

➤ *фильтры глубины* формируются из пластин волокнистых или пористых пеноматериалов. Они обеспечивают очень большую площадь для осаждения эмбол и нелегко поддаются блокированию;

➤ *фильтры-ситы*, обычно состоящие из тканых полимерных волокон, имеют более точно определенные поры для захвата эмбол (как правило, 20–40 мкм), но требуют большую площадь для того, чтобы предотвратить блокирование.

Поскольку фильтры увеличивают объем обходной системы и инородной поверхности, воздействию которой подвергается кровь, они используются не всегда, и по поводу их применения идут споры. Фильтры являются в особенности важными, если используются системы кардиотомии. С помощью этих фильтров кровь, протекающая в полости организма в ходе операции, всасывается и возвращается пациенту после фильтрации.

15.7. Диализ

Почечная недостаточность последней степени, вызванная одной из любых многочисленных патологий, обычно может быть исправлена только посредством диализа или в конечном счете посредством трансплантации почки. Диализаторы используются для удаления избыточной жидкости и растворимых продуктов обмена из организма. Они отличаются от газообменников тем, что им требуется транспортировать воду и водорастворимые материалы. Кровь обычно берется из артерии запястья и пропускается через перистальтический насос для создания давления (как правило, 200–300 мм рт. ст.), достаточного для того, чтобы приводить воду в движение по обменнику и сливать ее в жидкость, диализат.

Обменники могут быть полными или пористыми мембранами. В отличие от газообменников, они должны иметь высокую проницаемость для воды и полярных растворимых веществ. В качестве листа или полого волокна может использоваться целлюлоза и ее производные. Пористые волокна изготавливают из полисульфонов, поликарбонатов или полиметилметакрилата. Характеристики просеивания могут варьировать в зависимости от различных

патологий. Например, пациентам с отеками и массивным удержанием воды требуются гемофильтры с большими порами.

Так же как и в случае других обменников, условия потока должны предусматривать достаточное время для обмена и не только минимизировать пограничные слои транспорта масс, но также рассеивать пограничные слои поляризации концентрации, образующиеся в результате ультрафильтрации. Белки плазмы, для которых обменники являются непроницаемыми, будут уноситься посредством конвекции в направлении мембран и образовывать обогащенный белком слой, препятствующий диализу, как посредством добавления дополнительного слоя, через который должны проходить маленькие молекулы (и физически блокировать поры), так и посредством создания неблагоприятного осмотического градиента.

Диализат должен содержать соответствующие физиологические концентрации ионов и питательных веществ, так, чтобы не было чистой диффузии и потери этих материалов из организма. Поскольку почка играет определенную роль в гомеостазе кислоты / основания, концентрацию бикарбоната в диализате можно контролировать для лечения ацидоза или алкалоза.

Перитонеальный диализ. Если подходящая жидкость будет прокачиваться через брюшную полость, может происходить обмен материалами между кровью, орошающей капилляры брюшины, в частности мезентеральные сосуды, и циркулирующей жидкостью. В этом случае обменной мембраной, в сущности, является эндотелий капилляров, через который диффундируют продукты обмена, удаляемые из организма. Для удаления воды посредством осмоса может использоваться гиперосмотическая концентрация глюкозы в перфузате.

Огромным преимуществом этого метода является то, что он может использоваться в амбулаторных условиях. Видоизменение этого метода предусматривает включение в перфузат хелатирующих реактивов. Это обычная процедура в случаях отравления металлами, в частности такими, как ртуть или кадмий. Реакция ионов металла и хелатного реагента поддерживает оптимальный градиент диффузии (диффузии с реакцией).

Аферез. Этот метод предназначается либо для удаления компонентов жидкостей организма (обычно крови), либо для удаления вредных веществ у пациентов, либо для отбора полезных веществ у здоровых доноров. Исполь-

зуется два приема – это либо ультрафильтрация, либо непрерывное центрифугирование. Плазмаферез посредством ультрафильтрации часто используется для удаления конкретных токсических белков, в частности липопротеинов низкой плотности, при этом лейкоциты и циркулирующие стволовые клетки могут быть собраны посредством центрифугирования.

16. Системы сердечно-сосудистой стимуляции

Организм не может выжить без работоспособной сердечно-сосудистой системы, качающей кровь и обеспечивающей ее подачу каждому органу в соответствии с потребностями обмена веществ. Следовательно, любая патология, влияющая на сердце или кровеносные сосуды, должна быть исправлена. Данный раздел касается различных стратегий, которые могут быть взяты на вооружение при замене или усилении различных критических компонентов системы.

Широко распространенной причиной неадекватной функции сердца являются дефекты клапанов. Если клапаны поражены стенозом, на них развивается большой перепад давления, который может серьезно уменьшить системное давление или давление легочной артерии и неизбежно создать большую нагрузку на сердце. Клапаны могут не закрываться соответствующим образом либо из-за возрастного расширения кровеносных сосудов, либо из-за врожденного порока. Сердечная недостаточность может развиваться просто вследствие старения или может быть вызвана рядом различных конкретных патологий. Когда нормальное прокачивание крови нельзя больше обеспечить терапевтическим вмешательством, возникает необходимость в устройствах сердечной стимуляции – в искусственном или трансплантированном сердце.

Атеросклероз – это наиболее распространенная форма сосудистого заболевания. Атеросклеротические бляшки могут ограничивать кровообращение в результате образования либо стенозов, которые препятствуют потоку крови, либо эмбол, вызывающих инфаркт в направлении потока крови. Бляшки могут содействовать образованию аневризм, которые легко повреждаются, что сопровождается кровотечением в полости организма. Каж-

дый тип атеросклероза можно лечить путем введения аутогенных или синтетических трансплантатов.

В последнее время стенозы лечат посредством пластической операции на сосудах, которая предполагает введение баллона, надуваемого для расширения суженного сосуда, и установку стента для сохранения проходимости сосуда. Иногда выполняется внутренняя артериотомия, включающая хирургическое вскрытие сосуда с удалением утолщенного внутреннего слоя стенки сосуда.

Все инородные устройства, имплантированные в сердечно-сосудистую систему, увеличивают вероятность образования тромбов в сосудах, что может привести к инфаркту или сердечному приступу. Поэтому требуются поверхности, как можно меньше способствующие образованию тромбов. Такие поверхности получают путем подбора материалов, используемых для компонентов (в частности приклеивая слой антикоагулянта, например гепарина), или, что парадоксально, используя заглабленные поверхности, способные образовывать стабильный и прочно прикрепленный фибриновый слой, противодействующий дальнейшему свертыванию.

16.1. Основные определения

Аневризма – патологическое, заполненное кровью расширение кровеносного сосуда.

Анемия – уменьшение в крови количества эритроцитов и гемоглобина, осуществляющего перенос кислорода и углекислого газа кровью.

Атеросклероз – осаждение бляшек, содержащих холестерин и липиды, на стенках артерий.

Аутогенный – из того же организма.

Гепарин – мукополисахарид, способный предотвращать сворачивание крови, используемый при лечении тромбоза.

Гиперплазия – аномальное увеличение числа клеток в ткани, вызывающее последующее увеличение в размерах.

Гипертрофия – неопухоловое увеличение ткани как результат увеличения размера, а не числа составляющих клеток.

Диастола – ритмичное расслабление и расширение желудочков.

Инсульт – внезапная потеря функции мозга, вызванная повреждением кровеносного сосуда, питающего мозг, и характеризующаяся потерей мышечного контроля.

Инфаркт – перекрытие кровоснабжения любого органа или сосуда.

Канюля – трубка, используемая для слива жидкости из организма или введения жидкости в организм.

Ксенотрансплантат – трансплантат от чужеродного донора реципиенту – человеку.

Повторный стеноз – повторное возникновение стеноза после хирургического вмешательства.

Пластическая операция на сосудах – хирургическое восстановление кровеносного сосуда.

Стеноз – сужение просвета сосуда.

Стент – устройство, используемое для расширения заблокированных кровеносных сосудов.

Фибрин – белок, образующий волокнистую сетку в сгустке крови.

Эндартерэктомия – хирургическое иссечение внутренней выстилки закупоренной артерии.

16.2. Клапаны сердца

Заболевания клапанов сердца более распространены и более опасны, когда они возникают на левой стороне сердца. Каждый год выполняется почти 250 тыс. восстановительных процедур, главным образом на клапане аорты, а также на митральном клапане. Положение клапанов в сердце показано на рис. 44. Клапаны аорты обычно заменяются искусственным механическим или биологическим протезом, и, несмотря на то, что митральные клапаны могут заменяться, многие хирурги предпочитают восстанавливать существующий клапан путем его переформования. Традиционно замена клапана требовала операции со вскрытием грудной клетки, при этом требовался аппарат «сердце – легкие» для замены функций сердца и легких, но все чаще разрабатываются процедуры минимального оперативного вмешательства.

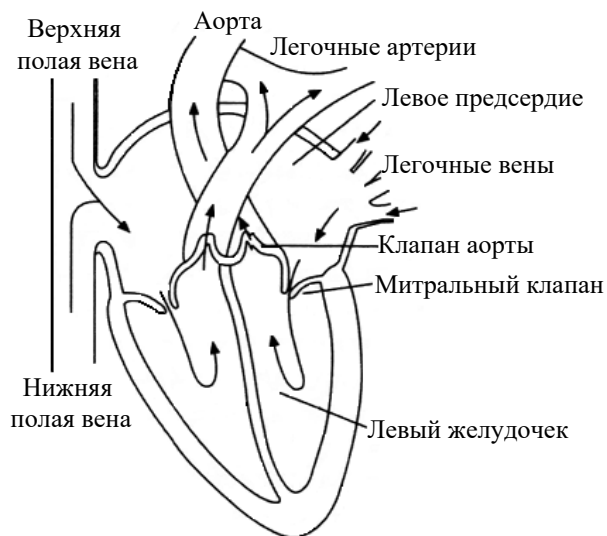


Рисунок 44 – Схема сердца, показывающая положение клапанов сердца и направление потока крови

Для того чтобы замененный или заменяемый клапан работал эффективно, к его конструкции предъявляются следующие требования.

1. *Гемодинамика.* При полном открытии отверстие должно быть соответствующего размера для уменьшения сопротивления потоку и ограничения сдвига. Геометрия клапана должна быть таковой, чтобы избегать зоны застоя или высокого локального напряжения. Коронарные артерии открываются у корня аорты, и протезы клапанов аорты не должны препятствовать коронарному потоку.

2. *Механизм закрытия.* Движущиеся компоненты должны быть легкими и обеспечивать полное открытие при минимальном перепаде давления. Они должны полностью, герметично, быстро и бесшумно закрываться при обратном перепаде давления.

3. *Материалы.* Компоненты должны быть биосовместимыми и антиромбогенными. Коагуляция вокруг искусственных клапанов сердца является самой распространенной причиной их выхода из строя. Прочность является важным свойством, а особенно устойчивость к усталости, поскольку в сред-

нем клапаны сердца открываются и закрываются приблизительно $3,7 \times 10^7$ раз в год. Желательно, чтобы отверстие было как можно больше, но при этом компоненты клапана должны быть достаточно прочными во избежание поломки, которая ведет к смерти пациента.

4. *Простота имплантации.* Клапаны обычно прикрепляются к волоконному слою, разделяющему предсердия и желудочки, посредством сшивающего кольца, которое часто изготавливается из тканого полиэстера. Сшивающее кольцо должно быть достаточного размера для точной вставки, но не настолько большим, чтобы ограничивать поток.

Механические клапаны. Механические клапаны были впервые имплантированы в 1950-х гг., но их конструкция с тех пор подвергалась постоянному пересмотру. Твердые компоненты механических клапанов обычно производятся из сплавов нержавеющей стали, молибденовых сплавов, и все чаще для корпусов клапанов и створок используется пиролитический углерод.

Самые первые искусственные клапаны представляли собой следующее устройство: сфера из пластмассы или металла в закрытом положении, на металлическом кольце фиксировалась во время открытия посредством металлической клетки. С этой конфигурацией кровь не могла больше течь по прямой, а должна была смещаться и обходить шар. Эти условия потока увеличивают работу сердца по приведению крови в движение. Большая сложность схем потока, неизбежно возникающая в результате этого, приводит к большему повреждению от сдвига, которому подвергаются компоненты крови. Пациенты с такими клапанами постоянно нуждаются в антикоагуляционной терапии и часто страдают от гемолитической анемии.

Более оптимальные характеристики потока могут быть достигнуты с помощью одного наклоняющегося диска, установленного под углом приблизительно 60° к направлению потока в открытом состоянии. Для ограничения диска используются одна или две опорки, изготовленные из пластмассы или металла. Самый последний механический клапан – это двухстворчатый клапан, в котором две приблизительно полусферические пластины поворачиваются на петлях, включенных в металлическое кольцо, на котором створки могут расплываться во время закрытия.

На рис. 45 показаны различные схемы механических клапанов сердца.

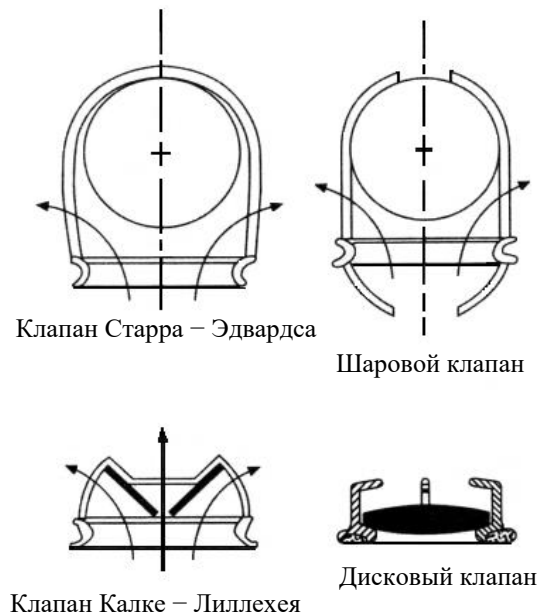


Рисунок 45 – Схемы механических клапанов сердца

Биологические клапаны. На протяжении последних 30 лет были разработаны различные методы использования биологических клапанов. Иногда вставляются аутогенные трансплантаты, когда для замены дефектного клапана аорты используется легочный клапан, при этом менее ответственный механический или чужеродный клапан вставляется в легочную артерию. Чужеродные клапаны изготавливают из свиной или коровьей ткани, фиксируемой такими материалами, как глутаровый альдегид, для исключения иммунологических реакций. Устройства включают целые клапанные системы, одинарные створки клапана, прикрепленные к металлическому кольцу, а так же клапаны, сформированные из ткани перикарда. Все эти клапаны более близки по анатомии к человеческому сердцу и антикоагуляционная терапия при их использовании может быть не такой строгой. Однако фиксированная ксенотрансплантатная ткань может создавать трудности, связанные с кальцификацией, делающей ее жестче (ограничивая таким образом открытие и закрытие клапана) и более подверженной усталостному повреждению, веду-

щему к разрыву. Срок службы ксенотрансплантатных клапанов зачастую короче сроков службы механических клапанов, поэтому, несмотря на менее удовлетворительные характеристики потока, современные механические клапаны сердца, как правило, устанавливаются молодым пациентам, и они могут служить в течение всей их жизни.

Инжиниринг тканей обладает большим потенциалом в области замены клапанов из-за очень простого строения створки нормального клапана. Идеальным примером инжиниринга тканей было бы использование аутогенных сосудистых клеток из собственных кровеносных сосудов пациента, полученных посредством биопсии, и выращивание их на постоянных или биораспадающихся каркасах для производства клапанов без какой-либо иммунологической реакции после имплантации. Такие клапаны были испытаны у пациентов на пути легочного оттока.

16.3. Насосы

Наиболее часто механические насосы требуются для поддержания организма во время таких процедур, как диализ или хирургия со вскрытием грудной клетки, но они все чаще используются и для поддержания отказывающего кровообращения у амбулаторных пациентов. Выполняя эту роль, они обычно используются для поддержания кровообращения в период, предшествующий трансплантации сердца, но иногда и для долгосрочной поддержки, работая параллельно с ослабленным сердцем.

Насосы при замене сердца должны не только генерировать поток крови, но и создавать ощутимую величину давления. В диализаторах требуется давление для приведения фильтрации в действие, а в других экстракорпоральных устройствах насосы должны преодолевать гидравлическое сопротивление, создаваемое компонентами системы. При использовании внутри организма или для возврата крови в организм давление должно быть достаточным для приведения потока в движение через микрокровообращение.

Насосы для экстракорпоральных устройств.

Перистальтические (роликовые) насосы. Эти насосы обычно используются для диализа и повсеместно применяются для устройств «сердце – легкие». Для многих хирургов они продолжают оставаться устройствами первого выбора. В этих насосах по твердым полукруглым путям вращаются два или более роликов на рычагах, сжимая при этом гибкую трубку. Просвет

трубки может эффективно уменьшаться, так что ролик приводит содержимое крови в движение в том направлении, в котором движется кровь. Ролики установлены таким образом, что когда один доходит до конца пути и отпускает трубку, другой будет сжимать трубку на другом конце. Таким образом, насосы могут генерировать поток против значительного давления в направлении потока, не требуя клапанов, и могут классифицироваться как позитивные поршневые насосы.

Генерируемая скорость потока может прогнозироваться относительно точно на основе скорости вращения роликов, а также на основе диаметра и длины трубки. Скорости потока являются нечувствительными к давлению против направления потока и по направлению потока, хотя очень низкие значения давления по направлению потока могут ограничивать эффективное повторное открытие трубки после того, как она была сжата. На практике эта проблема решается за счет использования резервуара над насосом на стороне впуска.

Недостаток перистальтических насосов заключается в том, что на компоненты крови могут налагаться очень высокие напряжения сдвига, в особенности во время быстрого сжатия и отпускания трубки. Эту проблему можно решить путем использования насоса в непоглощающем режиме, в котором трубка не зажимается полностью. Однако при такой конфигурации насос будет работать менее эффективно и будет гораздо более чувствительным к давлению против направления потока и в направлении потока.

Перистальтические насосы создают слабо колеблющийся поток, где каждый пик соответствует одному качанию ролика. Другие насосы, например центробежные или лопастные, создают равномерный поток. Нормальное кровообращение – это колебательная система, и имеются определенные доказательства того, что физиологическая регуляция потока крови, осуществляемая стенками кровеносных сосудов, зависит от пульсации. Колебание также будет содействовать смешиванию внутри кровяного потока, тем самым улучшая процессы обмена, поддерживаемые насосами.

Роторные насосы. Это могут быть импеллеры или центробежные насосы. Они обычно имеют форму огражденных устройств (для того чтобы избежать утечки крови), ротор которых приводится в движение магнитным способом посредством внешнего электрического двигателя. Импеллеры имеют вращающиеся лопасти, которые нагнетают кровь через огражденное цилин-

дрическое пространство, имеющее размеры, немного больше размера лопастей. В этих насосах развиваются очень высокие силы сдвига между лопастями и корпусом, что неизменно ведет к значительному гемолизу.

В центробежных насосах жидкость, поступающая в насос, быстро ускоряется и получает тангенциальную скорость (скорость, направленную по касательной) относительно оси быстро вращающегося вала, который может быть конусным или лопастным. Данный «вихревой» компонент не только направляет кровь по пути оттока, но и замедляет его, поскольку объем корпуса увеличивается в направлении от вала. Это пространство, в котором скорость крови уменьшается, называется «улиткой». Замедление вызывает преобразование высокой кинетической энергии крови в потенциальную.

Центробежные насосы могут иметь радиальную ориентацию, когда кровь поступает через ось ротора и смещается в «улитку» по периметру, или же они могут иметь осевую ориентацию, при которой кровь поступает по касательной в направлении вращения, когда «улитки» находятся по ту и другую сторону лопастей.

В центробежных насосах не существует простого способа прогнозирования создаваемых потоков и давлений. Они должны выводиться экспериментально и в большой степени зависят от условий давления в направлении против потока и в направлении потока. В идеале можно доказать, что существует линейная обратная зависимость между потоком через насос и создаваемым давлением. На практике достигается довольно-таки низкая эффективность, главным образом из-за вязкостного рассеивания силами сдвига внутри крови. Особая проблема возникает в точке, где кровь быстро замедляется, поскольку повышение давления вызывает образование разделительных зон. Эту проблему можно избежать за счет включения фиксированных лопастей, направляющих кровь более контролируемым образом в направлении от ротора.

Роторные насосы могут создавать отрицательные значения давления в направлении против потока, когда приток является ограниченным, поскольку быстрое ускорение крови сопровождается резким падением давления (эффект Бернулли). Такие отрицательные значения давления могут вызывать кавитацию или захват наружного воздуха.

Насосы для поддержки сердца.

Существует клиническая проблема, связанная с ограниченным запасом донорских сердец для трансплантации. Поэтому, были предприняты многочисленные попытки конструирования искусственного сердца. Насосы для поддержки сердца пациентов в амбулаторных условиях были впервые введены в 1980-х гг., хотя прототипы были испытаны на животных за много лет до этого. Были разработаны как *движущиеся дисковые или диафрагменные насосы*, которые создают потоки колебания, так и *центробежные или осевые турбинные насосы*, создающие непрерывный поток. Диафрагменные насосы содержат гибкую мембрану, перемещаемую назад и вперед в камере, в которую втекает и вытекает жидкость через впускной и выпускной клапаны.

Хотя ранние насосы были внешними по отношению к организму, большинство этих насосов, используемых и сегодня, устанавливаются в брюшную полость. Они снабжаются кровью канюлями, начинающимися в правом предсердии, и поставляют кровь поднимающейся или опускающейся грудной аорте. Более поздние осевые турбинные насосы имеют достаточно малый размер, для того чтобы быть установленными в левый желудочек. В современных вариантах центробежных насосов используются роторы, подвешенные гидродинамически, посредством чего минимизируется прилагаемый сдвиг.

Большинство насосов поддерживают функцию левой стороны сердца, но некоторые из них могут поддерживать обе стороны сердца. Возможно использование диафрагменного насоса для работы в возвратно-поступательном режиме, накачивание крови к легким во время хода вперед и системная циркуляция при движении назад.

Турбинные или центробежные насосы приводятся в движение электрическим двигателем. Дисковые или диафрагменные насосы могут включать механизмы гидравлического или пневматического привода. Большинство насосов имеют питание от батарей, которые пациент носит снаружи. Однако беспроводная технология в настоящее время обеспечивает источник питания внутреннего двигателя или внутреннего аккумулятора, который может периодически заряжаться через кожу.

В отличие от пациентов с экстракорпоральным шунтом, где работа насоса может регулироваться перфузионистом, амбулаторное механическое сердце в идеале должно реагировать на различные требования, предъявля-

мые к организму. Следовательно, работа большинства современных имплантируемых сердец регулируется, и выходной сигнал изменяется либо посредством ввода, осуществляемого пациентом, либо посредством датчиков, принимающих сигналы (например, от кардиостимулятора в правом предсердии).

Сложное трехмерное строение сердца представляет собой огромные трудности для создания целого сердца, полученного путем инжиниринга тканей. Более перспективным является использование имплантатов из клеток сердечной мышцы, полученных посредством инжиниринга тканей, в качестве поддержки работы пораженной болезнью ткани. Удалось также добиться прогресса в разработке трансгенной ткани от свиней и приматов.

Устройства стимуляции желудочка сердца.

Когда сердце работает неоптимально, огромное значение имеет сохранение потока крови к мозгу, а также сохранение коронарного кровообращения. *Широко используемый метод*, исключающий необходимость серьезного хирургического вмешательства, *заключается в использовании шарового насоса в аорте*. В грудную аорту помещается шар (обычно через катетер бедренной артерии), который быстро надувается в период диастолы и быстро сдувается в начале выброса крови из желудочка. Для надувания шара используется гелий, поскольку его низкая плотность обеспечивает минимальное сопротивление потоку во время этих быстрых манипуляций. Ограничение потока в направлении нижней половины организма в период диастолы усиливает коронарное орошение и орошение мозга. Быстрое сдувание шара способствует сокращению миокарда путем уменьшения последующей нагрузки.

Кардиостимуляторы.

Кардиостимуляторы – это имплантируемые устройства, подающие контролируемый, ритмичный электрический стимул сердцу для поддержания нормального сердечного ритма. Кардиостимулятор имеет три компонента:

- 1) импульсный генератор, содержащий батарею и цепи, генерирующие стимул и регистрирующие электрическую активность;
- 2) изолированный провод, передающий стимул от генератора сердцу, а также проводящий специфические сигналы от сердца к генератору;
- 3) программируемое телеметрическое устройство, обеспечивающее двустороннюю связь между генератором и врачом.

Достижения науки материалов и электроники позволили добиться продолжительного 10-летнего срока службы имплантируемых кардиостимулято-

ров. По некоторым оценкам, 350 тыс. пациентов во всем мире смогли улучшить качество жизни благодаря кардиостимулятору.

16.4. Протезы сосудов

Если сосуд поражен стенозом и существует противопоказание для пластической операции на сосудах или если аневризма требует серьезного лечения, для шунтирования пораженного района вводят сосудистые трансплантаты. Большинство трансплантатов в настоящее время являются либо аутогенными, либо синтетическими, хотя и прилагается множество усилий для создания материалов путем инжиниринга тканей.

Широко распространенным аутогенным трансплантатом является *шунт коронарной артерии*. В прошлом трансплантат забирался из подкожной вены ноги и устанавливался между аортой и коронарной артерией в направлении потока крови от стеноза. В последнее время предпочтение отдается ответвлению артерии молочной железы, во-первых, потому, что процедура предусматривает меньшее хирургическое вмешательство, и, во-вторых, вследствие того, что данный сосуд менее склонен, чем подкожная вена ноги, к послеоперационной гиперплазии и повторному стенозу.

Были изготовлены *синтетические трансплантаты в виде трубок тканей*, включающих полиэстеры и политетрафторэтилен. Различные коммерческие продукты часто содержат поверхностные слои, противодействующие свертыванию крови. Хотя данные протезы обладают достаточной прочностью для того, чтобы противостоять значительным механическим силам, прикладываемым к ним, они не являются такими же гибкими, как более крупные артерии, которые они заменяют. Отсутствие гибкости влечет за собой две проблемы: во-первых, ослабление и отражение волн давления, являющиеся важным компонентом функции сосудов, и, во-вторых, на стыках с природными сосудами возникают значительные несоответствия механических свойств. Создаются высокие локальные напряжения при растяжении, которые способствуют реконструкции, приводящей к вредной гипертрофии ткани стенок. Поэтому идет активная работа по разработке эластомерных протезов, включая протезы, содержащие эластин, главный волоконный компонент больших артерий.

Основным преимуществом трансплантатов, полученных инжинирингом тканей, является то, что потенциально они могут создаваться с внутренним слоем эндотелиальных клеток (клеток, которые являются внутренней обшивкой кровеносных сосудов в организме и которые обладают специфиче-

скими свойствами противостоять образованию тромбов и растворять сгустки). Наиболее перспективные подходы предусматривают совместное выращивание эндотелиальных клеток и клеток гладкой мышцы (второго главного клеточного компонента стенки нормального сосуда) в биораспадающихся матриксах. Клетки гладкой мышцы способны синтезировать волоконные компоненты ткани, которые могут заменить синтетический матрикс, когда он распадается.

Стенты. Пластическая операция на сосудах с использованием шара стала предпочтительным методом ослабления сосудистого стеноза, вызываемого у большинства пациентов атеросклеротическими изменениями стенок сосудов. Стенты используются все чаще для дополнения как пластической операции на сосудах, так и эндартерэктомии в целях улучшения исхода операции. Обе процедуры при их изолированном выполнении приводят к высокой частоте повторных стенозов, и стенты используются для поддержания нормальных размеров сосудов. Обычно они представляют собой цилиндры, изготовленные из металлической сетки, которые открываются, когда надуваются шары (см. рис. 46). Сетка должна быть достаточно жесткой, для того чтобы противостоять сжимающим силам, прикладываемым к сетке растянутой тканью артериальной стенки.

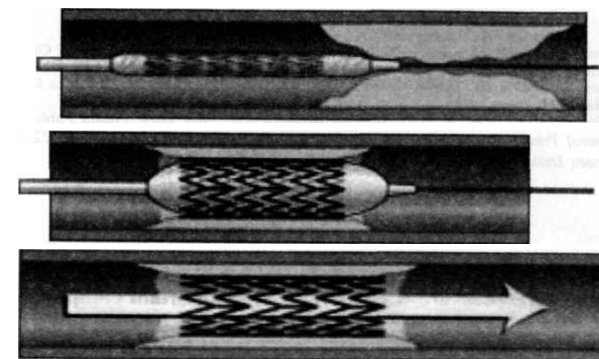


Рисунок 46 – Схема с изображением вставки стента при пластической операции на сосудах с использованием шара

При использовании стента также возникают проблемы. Это коагуляция и гиперплазия ткани стенки сосуда, ведущая к повторному стенозу. Предпринимались различные попытки включения ингибиторов роста в стенты для предотвращения этих процессов.

Контрольные вопросы

1. Баланс каких клеток определяет механизмы и уровни восстановления кости?
2. Какие задачи решает фиксация перелома? Хирургические виды фиксации и чем они отличаются.
3. Привести свойства и применение (вид изделия) нержавеющей стали, сплава Ti, сплавов Co–Cr (кованый), нейлона.
4. Для фиксации чего используются проволоки
5. Что такое штифты, и какое отличие штифта Штаймана от штифта Киршнера?
6. Какие виды винтов, и с какими видами резьбы используются в ортопедической практике?
7. Для какой цели используются пластины?
8. Что такое интрамедуллярные гвозди (гвозди IM)?
9. В качестве чего используются биоактивные материалы и что такое ортопедический «паштет»? Перечислите биоактивные материалы, успешно используемые сегодня в клинической практике.
10. Структура протеза для замены всего бедра.
11. Перечислите типы наиболее часто используемых протезов коленного сустава.
12. Какие биоматериалы используются при замене суставов лодыжки, плеча, локтя, пальцев?
13. Кратко охарактеризуйте проблему замены жизненно важных органов на искусственные.
14. Какие условия применения уравнения Пуазейля?
15. Что такое диффузия? Какие параметры рассматриваются при диффузии газов и диффузии материалов по сложным системам?
16. Перечислите и кратко охарактеризуйте существующие системы для доставки материала организму либо для удаления нежелательного материала.
17. Какие требования предъявляются к конструкции сердечного клапана?
18. Дайте краткую характеристику механического и биологического клапанов сердца.
19. Перечислите виды насосов для экстракорпоральных устройств.
20. Какие существуют виды сосудистых трансплантатов?

Часть IV. ИНЖИНИРИНГ ТКАНЕЙ

17. Введение в инжиниринг тканей

Цель инжиниринга тканей – это конструирование и создание в лаборатории живых функциональных компонентов, которые могут быть использованы для регенерации неправильно функционирующих тканей. Хотя эта область считается относительно новой, первый документированный доклад об инжиниринге тканей появился в 1933 г., когда опухолевые клетки были помещены в полимерную мембрану и имплантированы свинье.

Инжиниринг тканей – это междисциплинарная область, объединяющая в единое целое основы наук о жизни и медицине с основами инженерных дисциплин, и имеет дело с тремя основными компонентами: клетками, каркасами и сигналами. За последнее десятилетие на развитие инжиниринга тканей повлияли следующие факторы: расширения знаний и доступности стволовых клеток, геномики, протеомики, появления новых биоматериалов в качестве потенциальных шаблонов для выращивания тканей, совершенствования конструкции биореактора и расширения понимания процессов заживления. Все это содействовало развитию данной дисциплины. Однако, несмотря на то, что исследования в области инжиниринга тканей развиваются быстро, в области коммерческой разработки, а отсюда и в области клинического применения продуктов, созданных в результате инжиниринга тканей, существовал пробел. Основными проблемами промышленного развития являются сложности разработки эффективных процессов, гарантирующих жизнеспособность продукта и удовлетворяющих нормативным требованиям. Тем не менее, прогресс идет вперед, и число людей, уже пользующихся результатами инжиниринга тканей, в ближайшие годы многократно возрастет. В данном разделе дается понятие конструирования ткани, а также описание случаев применения этих тканей в наши дни.

17.1. Основные определения

Бластоцит – ранняя фаза развития эмбриона.

Кариотип – хромосомный набор человека или вида, включая число, форму и размер хромосом.

Мезодерма – средний слой, эмбриональный зародышевый листок, из которого развиваются соединительная ткань, мышцы, кости, мочеполовая и кровеносная системы.

Ооцит – клетка, из которой развивается яйцеклетка (женская гамета).

Пластичность клеток – потенциал клеточной дифференцировки.

Плюрипотентный – плюрипотентная стволовая клетка имеет потенциал дифференцировки в клетки нескольких типов.

Соматическая клетка – любой тип клетки, не связанный с репродукцией.

Стромальная клетка – клетка со структурной функцией, в костном мозге поддерживает кроветворные клетки.

Тератокарцинома – злокачественная опухоль, состоящая из различных типов ткани, возникает из разных клонов терминальных клеток.

Тотипотентный – тотипотентная стволовая клетка обладает потенциалом дифференцировки в клетки любого типа.

Трофобласт – клетка внешнего слоя бластоцита (трофодерм).

Фенотип – специфические характеристики клетки.

Цитокины – регуляторные белки, продуцируемые клетками иммунной системы и действующие в качестве внутриклеточных медиаторов, генерирующих иммунные реакции.

Эктодерма – наружный слой, один из трех первичных зародышевых листков эмбриона, из которого развиваются эпидермис, нервная ткань и органы чувств.

Эндодерма – внутренний слой, один из трех первичных зародышевых листков эмбриона, из которого развивается желудочно-кишечный тракт, легкие и связанные с ними структуры.

17.2. Проблема

Проблема, стоящая перед инжинирингом тканей, заключается в том, чтобы оптимизировать выделение, размножение и дифференцировку клеток, сконструировать каркасы или системы доставки, способствующие поддержанию и координации роста трехмерных тканей в лаборатории. Одна из идеальных стратегий заключается в заборе стволовых клеток у пациента, дальнейшем размножении их в клеточной культуре и высеве этих клеток на каркасы. Стволовые клетки могут дать начало множеству типов специализированных зрелых клеток в результате процесса, называемого дифференцировкой, если на них воздействовать конкретными биологическими стимулами. Каркасы в таком случае должны выступать в качестве шаблона и стимула для

размножения и дифференцировки стволовых клеток в специализированные клетки, генерирующие специфическую новую ткань. Ткань может быть либо выращена на каркасах, которые полностью исчезнут (резорбируются) по мере роста новой ткани, так что имплантироваться будет только новая ткань, либо может быть имплантирован «биокомпозит», состоящий из каркаса и новой ткани. После имплантации полученный в результате инжиниринга тканей конструкт должен выжить, восстановить нормальную функцию, например биохимию, как механическую, так и структурную целостность, и интегрироваться с окружающими его тканями. Использование клеток, полученных от одного и того же пациента, устраняет проблему иммуноотторжения, которое может возникать при получении донорских трансплантатов.

17.3. Источники клеток и условия культивирования клеток

По всей видимости, единственным и самым важным элементом успеха инжиниринга тканей является способность генерировать соответствующие количества клеток (слишком большое количество клеток может быть вредным, как и слишком маленькое), а также способность этих клеток дифференцироваться, поддерживать соответствующий фенотип и выполнять конкретные биологические функции. Например, клетки должны продуцировать внеклеточный матрикс (в его основе белки, в частности коллаген) соответствующей организации и структуры, выделять цитокины и другие сигнальные молекулы и взаимодействовать с соседними клетками или тканями. Сразу же возникает ряд потенциальных проблем. Одной из важнейших проблем является получение соответствующих количеств клеток для восстановления органа.

Конструкторы тканей рассмотрели фактически все ткани в организме. В некоторых случаях было возможно восстанавливать или замещать ткани, используя на первом этапе соответствующие клетки от того же пациента или от близкого родственника, в частности аутогенные хондроциты для восстановления коленного сустава. Использовались также неспецифические типы клеток, например фибробласты кожи, для инжиниринга клапанов.

Первичные клетки. Первичные клетки – это зрелые клетки определенной ткани, которые забираются из трансплантатного материала, удаляемого посредством хирургической процедуры. Примером служат первичные человеческие остеобласты, забираемые с бедренных головок, которые удаляются в

операциях полной замены бедра. Первичные клетки – это наиболее желаемые клетки в отношении иммунологической совместимости, но, как правило, они являются дифференцированными неделящимися клетками. Это означает, что они больше не способны делиться и их потенциал к размножению и росту является низким. Это может осложняться тенденцией некоторых типов клеток к дедифференцировке при их культивации вне организма, в результате клетки теряют соответствующий фенотип. Например, суставные хондроциты в культуре часто продуцируют фиброзный, а не прозрачный хрящ. Это послужило стимулом для исследований, направленных на отыскание и развитие альтернативных источников клеток для стратегий инжиниринга тканей. Использование стволовых клеток снимает ограничения, имеющиеся при использовании первичных клеток, полученных из эксплантационных тканей.

Стволовые клетки. Стволовые клетки, как правило, определяются как недифференцированные клетки, способные делиться, самообновляться и дифференцироваться в один или более типов специализированных клеток. Однако в последнее время произошел определенный пересмотр данного определения, поскольку иногда наблюдается дедифференцировка и транsdифференцировка некоторых зрелых клеток. Поэтому было предложено сделать это определение более широким и применимым к биологической функции, которую имеет определенный диапазон типов клеток (включая дифференцированные клетки), а не одна структура. Стволовые клетки могут быть выделены из эмбрионов, зародышей или взрослой ткани, но диапазон типов клеток, в которые они могут дифференцироваться, колеблется. Эмбриональные стволовые клетки являются наиболее полипотентными, т.е. они могут стать самыми различными типами клеток при соответствующих условиях. *Для инжиниринга тканей стволовые клетки могут быть фактически неистощимым источником клеток.*

Современные исследования нацелены на стимуляцию дифференцировки стволовых клеток в необходимые типы клеток, очистку этих клеток, подтверждение того, что в клеточной популяции отсутствует остаточный канцерогенный потенциал, и на имплантацию в такой форме, которая заменяет или усиливает функцию пораженных заболеванием или поврежденных тканей. Первым шагом является подбор наиболее подходящей стволовой клетки для формирования необходимой ткани.

«Взрослые» стволовые клетки. Каждый человек несет в себе свой собственный запас стволовых клеток, существующих в различных участках ткани, включая костный мозг, мозг, печень, кожу, а также кровеносную систему. Первоначально считалось, что эти клетки имеют только олигодифференцировку (монопотентность), но в настоящее время известно, что они могут проявлять значительную степень пластичности. Поэтому теоретически эти клетки можно удалять из организма пациента, вводить в конструкт ткани и возвращать обратно в тот же самый организм, когда возникает потребность в замене или восстановлении органа, не прибегая к иммуносупрессии. Очевидно, что следует изучить пригодные для этого недифференцированные клетки-предшественники, полученные из взрослого организма. Однако некоторые типы стволовых клеток труднодоступны (например, нелегко и нежелательно брать стволовые клетки мозга!) или встречаются крайне редко (например, в костном мозге имеется приблизительно 1 стволовая клетка на 100 тыс. клеток, и даже она может не подойти из-за возраста пациента и заболеваний). *Ограниченные возможности для дифференцировки и плохой рост могут лимитировать применение «взрослых» стволовых клеток в инжиниринге тканей.*

Эмбриональные стволовые клетки. Эмбриональные стволовые клетки, вызывающие этическое беспокойство в некоторых кругах, *остаются наиболее приемлемым источником клеток, имеющимся в распоряжении конструкторов тканей.* Эмбриональные стволовые клетки мышей (ES) были описаны впервые более двух десятилетий назад, когда они были выделены из внутренней клеточной массы развивающегося бластоцита (ранняя стадия развития эмбриона) и выращены в лаборатории. С тех пор было доказано, что клетки ES являются тотипотентными, что они дифференцируются во все виды, включая клетки зародышевой линии (герминальные) и трофобласт. Было доказано, что *in vitro* клетки ES бесконечно делятся без дифференцировки и сохраняют способность дифференцироваться во все зрелые соматические фенотипы при получении соответствующих сигналов. Выделение клеток типа ES стало крупным прорывом в биологии развития, поскольку оно представляло простую модель для изучения процессов раннего эмбрионального развития и клеточной дифференцировки. Это также открыло путь для практического использования инжиниринга тканей. Если клетки ES могут выводиться из бластоцитов человека, можно воспользоваться их способностью

многообразной дифференцировки, например для клеточной терапии, когда фактически любую ткань или тип клеток можно воспроизводить по потребности в лабораторных условиях. Клетки ES человека были получены в 1998 г., и это дало сильный толчок развитию инжиниринга тканей.

Клетки ES человека демонстрируют несколько важных отличий от клеток ES мышей, культивируемых *in vitro*. Клетки ES человека растут медленнее, обычно образуя плоские, а не сферические колонии, и легче мышинных разделяются на одиночные клетки. В отличие от мышинных, клетки ES человека не реагируют на ингибиторный фактор лейкоза (LIF). Поэтому для сохранения недифференцированного состояния им требуется подсадка мышинных эмбриональных фибробластов (MEF) и присутствие основного фактора роста фибробластов. Кроме того, им не требуются специфичные субстраты, в частности матригель или ламинин в среде, содержащей MEF.

Дифференцировка клеток ES часто начинается с формирования четких клеточных агрегатов или эмбрионидных тел (EB), состоящих из клеток трех основных зародышевых слоев: эктодермы, энтодермы и мезодермы. Большинство клеток ES образуют EB спонтанно. Они оказались полезными в изучении ранних процессов развития млекопитающих. В течение всего лишь нескольких дней EB могут вырастать и вовлекать многие тысячи клеток, являясь богатым источником клеток-предшественников всех зародышевых слоев. Клетки-предшественники, иногда называемые трансусиливающими клетками, «ориентированы» на формирование конкретного типа клетки. Они сохраняют способность к бесконечному делению и способствуют созданию основополагающих структуры и функции тканей.

Условия культивирования клеток. Как указывалось выше, изменяя условия культивирования стволовых клеток, можно регулировать клеточную дифференцировку и выборочно получать культуры с конкретным фенотипом. Такая манипуляция предусматривает индукцию клеток конкретными цитокинами, факторами роста, аминокислотами, другими белками и активными ионами, а также совместное выращивание с целевым типом клеток или тканей. Часто для получения конкретного типа клеток используются методы сортировки клеток, в частности сортировка клеток с флуоресцентной меткой (FACS). При использовании этих подходов из стволовых клеток, главным образом *in vitro*, были получены фактически все типы клеток организма, но

стабильные имплантаты, полученные из стволовых клеток, были созданы в организме, т.е. *in vivo*.

Стволовые клетки также поддаются генетической модификации, в особенности клетки ES. На их основе созданы трансгенные и нокаутные (не несущие данного гена) животные, что позволило провести более подробное исследование генома и специфических функций конкретного гена. Это также предоставляет возможность введения генов для индукции, ограниченной видом дифференцировки клеток, и создает основу для генной терапии в целях ввода терапевтических генов и потенциального модулирования иммунной реакции, позволяя имплантировать чужеродные клетки и ткани.

17.4. Трехмерные взаимодействия

Нормальная функция (кроме растворимых в цитоплазме факторов) большинства клеток и тканей зависит от пространственного взаимодействия с соседними клетками и с субстратом или внеклеточным матриксом (ECM).

Взаимодействия клетки с клеткой и клетки с ECM координируются членами нескольких семейств мембранных белков, называемых молекулами адгезии. Они имеют основополагающее значение для адгезии клеток, помогая определять трехмерную клеточную структуру, а также участвовать в передаче сигналов клеткам, в регуляции отбора клеток, их роста и дифференцировки, а также иммунного распознавания и воспалительных процессов. Следовательно, *обобщение функции ECM и трехмерных взаимодействий клеток важно для создания жизнеспособных конструкторов при замене ткани in vivo*. Для создания трехмерных каркасов, функционирующих в качестве искусственного ECM, использовался ряд природных и синтетических материалов. Каркасы для восстановления тканей в идеале должны быть нетоксичными, иметь хорошую биосовместимость, быть биораспадающимися и способными взаимодействовать специфически с соответствующими типами клеток. Работа с такими материалами позволила получить биоактивные каркасы посредством осаждения на них биомолекул, а также модифицировать эти материалы для отбора и адгезии конкретных типов клеток.

17.5. Перепрограммирование клеток

В свете успешного клонирования овцы Долли в Институте Рослина и различных других животных, которое последовало за Долли, понимание механизмов ядерного клонирования или перепрограммирования и возможное овладение ими для восстановления тканей вызвало большой интерес. При ядерном клонировании безъядерный овоцит сливается с ядром соматической клетки. Это индуцирует «перемотку» генетической программы соматического ядра для создания тотипотентной клетки. Эта клетка может быть использована для продукции клеток типа ES, которые могли бы быть использованы для получения конкретных типов клеток и тканей, являющихся генетически идентичными соматической клетке донора (*терапевтическое клонирование*). Если суррогатной матери имплантируется яйцо, оно потенциально может образовать нормальный эмбрион (*репродуктивное клонирование*). Факторы и механизмы, приводящие к такому преобразованию, неизвестны, но возможно, что какой-то компонент, например цитокин, гормон и т.д., безъядерного овоцита стимулирует процесс перепрограммирования.

17.6. Перспектива

В настоящем разделе были рассмотрены некоторые самые последние разработки в области применения стволовых клеток для регенерации тканей. Несомненно, что стволовые клетки, полученные из взрослых организмов и эмбрионов, обладают большим терапевтическим потенциалом, но ясно и то, что, прежде чем их использование в клинике станет повседневным делом, потребуется провести еще много исследовательской работы.

Как упоминалось выше, не прекращаются споры о том, могут ли использоваться «взрослые» стволовые клетки вместо клеток ES. В табл. 11 приведены аргументы «за» и «против», связанные с клетками ES и «взрослыми» стволовыми клетками.

Безусловно, существует необходимость в рационализации, но это можно сделать, как только мы внимательно сравним и сопоставим эти различные клетки при соответствующих экспериментальных условиях. Некоторые характеристики, которые могли бы помочь разрешить проблему источника клеток, уже обсуждаются. Доступность клеток, очевидно, имеет значение. Что касается «взрослых» стволовых клеток, уже ясно, что некоторые клетки,

например нервные стволовые клетки, представляют значительные трудности для забора их у пациента (по крайней мере, у живых доноров). Даже более доступные клетки, в частности стволовые клетки костного мозга, забираются посредством процедуры инвазивной аспирации. Существуют также проблемы, связанные со встречаемостью и обилием «взрослых» стволовых клеток и их численностью, а также их физиологической активностью, которая может уменьшаться в зависимости от возраста или быть под влиянием заболевания.

Таблица 11 – Сравнительная характеристика клеток ES и «взрослых» стволовых клеток

Характеристика	Клетки ES	Стромальные стволовые клетки костного мозга
Деление <i>in vitro</i>	Бесконечное	Неясно. Вероятно, деление клеток в популяции заканчивается примерно через 50 удвоений клеток
Стабильность	Кариотип может изменяться при продолжительном культивировании	Может измениться локализация клеток; возраст или заболевание влияют на численность клеток и их дифференцировку
Доступность	Несколько стабильных клеточных линий. Постоянство этих линий окончательно не подтверждено	Несколько клеточных линий, но, как правило, требуется аспирация ткани. Разные методы забора образца и разная доступность клеток могут повлиять на результат
Трехмерные взаимодействия	Как правило, растут в виде агрегатов и дифференцируются в виде EB	Как правило, монослойные культуры
Восстановление <i>in vivo</i>	Несколько исследований на животных. Существующие клеточные линии не могут применяться для лечения людей	Продемонстрировано на многих животных, аутогенных и аллогенных трансплантатах у человека

В отношении клеток ES выражена озабоченность некоторых религиозных конфессий, и предлагаемая практика терапевтического клонирования, как правило, представляется искаженно в средствах массовой информации. Создание клеток ES может быть несколько компенсировано тем обстоятельством, что существуют потенциально «большие» количества эмбрионов, созданных путем оплодотворения *in vitro*, которые избыточны и превышают потребности (обычно их уничтожают) и которые могут использоваться для продукции клеток ES. Правительство Великобритании, проявив значительную дальновидность, дало зеленый свет широким, но тщательно контролируемым исследованиям в области стволовых клеток через законодательство и создание банка стволовых клеток при Совете медицинских исследований.

«Взрослые» и эмбриональные стволовые клетки, их стабильность, потенциал передачи вредных патогенов или генетических мутаций, риск образования нежелательных тканей или даже тератокарцином (злокачественных опухолей) еще должны быть полностью проанализированы и оценены.

18. Каркасы для инжиниринга тканей

У всех современных ортопедических имплантатов *отсутствуют три самые важные характеристики живых тканей:*

- способность к самовосстановлению;
- способность поддерживать кровоснабжение;
- способность изменять строение и свойства в ответ на факторы окружающей среды, в частности механическую нагрузку.

Все имплантаты имеют ограниченный срок службы, и, поскольку продолжительность жизни человека постоянно растет, для удовлетворения растущей потребности в долгосрочном ортопедическом восстановлении предполагается сместить акцент с замены тканей на *регенерацию* тканей.

Ранее уже давалось понятие инжиниринга тканей как выращивание в лаборатории тканеподобного конструкта, готового к имплантации в целях регенерации пораженной болезнью или поврежденной ткани в ее первоначальное состояние и первоначальную функцию. Это междисциплинарная область, затрагивающая биологию клетки и молекулярную биологию, материаловедение, инженерную механику и химическую технологию, химию и физику. Существует возможность отбора стволовых клеток у пациента, вы-

севания их на каркасы необходимой архитектуры от *vitro*, где им сообщается биологический сигнал к делению и дифференцировке. Внимание настоящего раздела сосредоточено на разработке таких каркасов, на обсуждении специфических особенностей используемых материалов для регенерации конкретных тканей. В любом применении каркасов выбор материала и конструкция играют важную роль.

18.1. Классы потенциальных каркасных материалов

Все материалы при имплантации вызывают биологическую реакцию организма. Многие являются токсичными для организма, однако многие являются биосовместимыми (не токсичными). *Существует три класса биосовместимых материалов:* биоинертные, рассасывающиеся и биоактивные.

Биоинертные материалы. Никакой материал не является полностью инертным после имплантации, однако единственной ответной реакцией на имплантацию биоинертных материалов является инкапсуляция имплантата волокнистой тканью (шрам). Примерами биоинертных материалов являются окисел алюминия медицинской марки, окисел циркония, нержавеющие стали и высокоплотный полиэтилен, используемые при полной замене бедра.

Рассасывающиеся материалы. Рассасывающиеся материалы – это такие материалы, которые растворяются при соприкосновении с жидкостями организма, и продукты их растворения могут выводиться через почки. Наиболее распространенными биомедицинскими рассасывающимися материалами являются полимеры, распадающиеся посредством цепного дробления, в частности такие, как полигликолевая (PGA) и полимолочная (PLLA) кислоты и их сополимеры, широко используемые в качестве материала для хирургической нити. Некоторые виды биокерамики также рассасываются *in vivo*, в частности фосфаты кальция.

Биоактивные материалы. Биоактивные материалы стимулируют биологическую реакцию организма, в частности присоединение к ткани. Существует *два класса биоактивных материалов:* остеокондуктивные и остеопродуктивные. Остеокондуктивные материалы присоединяются к твердой ткани (кости) и стимулируют рост кости по поверхности биоактивного материала, например синтетическая гидроксилapatитная керамика и трикальцийфосфатная керамика. Остеопродуктивные материалы стимулируют рост новой кости на материале в направлении от стыка кость / имплантат, например биоактив-

ные виды стекла, которые также могут присоединяться к мягкой ткани, в частности к ткани десны и хрящу.

Считается, что механизм присоединения кости к биоактивным материалам связан с образованием гидроксилapatитного слоя на поверхности материалов после погружения в жидкость организма. Этот слой аналогичен слою апатита в кости, и поэтому может образовываться прочная связь. Слой формируется быстрее всего на остеопродуктивных материалах.

18.2. Критерии идеальных каркасов

Существует множество критериев, которые должны выполняться для создания идеальных каркасов. Такие каркасы еще предстоит разработать, но их появление возможно в недалекой перспективе.

Для того чтобы можно было регенерировать ткань, *каркасы должны иметь структуру, которая действует как шаблон, или матрица для роста ткани в трех измерениях и стимулирует новый рост в форме, заданной каркасом.* Очевидно, что конструкцией шаблона является структура, копирующая структуру ткани организма-хозяина. Для того чтобы позволить ткани расти в трех измерениях, шаблон должен быть сетью больших пор (макропор). Поры должны быть соединены друг с другом, а отверстия между порами должны иметь диаметр более 100 мкм. Взаимосвязанная сеть пор необходима для того, чтобы позволить клеткам мигрировать по каркасу и способствовать росту ткани на протяжении всего шаблона. В условиях культуры клеток *in vitro* и роста ткани сеть пор позволит среде культуры достигать всех клеток, снабжая их нужными питательными веществами. Как только конструкт, созданный посредством инжиниринга тканей, будет имплантирован, поры должны быть соединены так, чтобы могла проникать кровь для обеспечения питания. В конечном счете, *идеальные каркасы стимулируют рост кровеносных сосудов (ангиогенез) внутри сети пор.* Минимальный диаметр отверстия для ангиогенеза и для вращивания кости в случаях применения инжиниринга костной ткани составляет 100 мкм.

Оптимизации требует не только морфология макропор, но также и *топография поверхности.* Многие клетки, в частности остеогенные, должны присоединяться к субстрату до того, как они заложат свой внеклеточный матрикс. Поверхностная текстура пор нанометрического масштаба или ше-

роховатость поверхности в нанометрическом масштабе могут увеличивать активность клеток.

Когда имплантируются биоинертные материалы, имплантат окружается волоконной тканью (шрамом). Если имплантируются биоинертный каркас, он будет быстро изолироваться от ткани организма-хозяина, и ткань организма-хозяина регенерировать не будет. Поэтому *каркасный материал должен прикрепляться к ткани организма-хозяина без образования шрамов.* Одним из способов достижения биоактивности является использование биоактивного материала, в частности биоактивной керамики или стекла. Для инжиниринга тканей может подходить остеокондуктивный материал, в частности гидроксилapatит. Если требуется более высокая биоактивность или остеопродуктивность, в этом случае могут использоваться биоактивные стекла. Некоторые составы биоактивного стекла могут также присоединяться к мягкой ткани. Полимеры, не являющиеся биоактивными, можно заставить прикрепляться к мягкой ткани путем модифицирования их поверхности и прикрепления белков, в частности ламинина, к поверхности полимера, что будет стимулировать адгезию ткани.

Назначение инжиниринга тканей состоит в регенерации тканей до их первоначальных состояния и функций. Этого не произойдет, если в ткани организма-хозяина по-прежнему остается искусственный материал. *Идеальные каркасы* поэтому *должны быть рассасывающимися*, чтобы, в конечном счете, не имелось никаких следов их присутствия. Продукты растворения каркасов должны быть продуктами, которые организм может легко вывести или усвоить. Скорость распада каркасов должна быть контролируемой, с тем, чтобы она могла быть индивидуализирована в соответствии со скоростью роста ткани сразу же после имплантации. Рассасывающиеся полимеры и гидрогели – это наиболее часто используемые рассасывающиеся каркасы, однако трикальцийфосфат и некоторые виды биоактивного стекла обеспечивают как рассасываемость, так и биоактивность.

Идеальные каркасы не только служат шаблонами для роста ткани и обладают контролируемой рассасываемостью, но также *должны активировать клетки ткани для саморегенерации.* Каркасы должны действовать в качестве системы доставки и контролируемого выхода веществ, активирующих клетки и гены. Этими реагентами могут быть самые различные вещества. Факторы роста могут быть включены в каркасы из рассасываемого полимера или гид-

рогеля, которые будут высвобождать факторы роста в организм по мере рассасывания каркасов. Биоактивные виды стекла и каркасы с кремниевой заменой гидроксилпатита высвобождают небольшие концентрации ионов кремния и кальция, которые, как было установлено, индуцируют семь семейств генов в остеообластах, усиливая деление клеток и синтез внеклеточного матрикса кости.

Важно, чтобы механические свойства конструкта, получаемого посредством инжиниринга тканей, соответствовали механическим свойствам ткани организма-хозяина. Это очевидно из опыта полной замены бедра. Имплантаты из сплава металла обладают гораздо более высокой жесткостью (модуль Юнга), чем кость. Это вызывает экранирование напряжения, при котором вся нагрузка передается через металл, а не кость, приводя к тому, что организм рассасывает кость. Это один из основных недостатков использования биоактивных видов керамики и стекла для регенерации ткани. Однако если ткань выращивается на биокерамических каркасах *in vitro*, конструкт, полученный посредством инжиниринга тканей, является биоконструктом, и его модуль будет уменьшаться. Критическими являются только механические свойства окончательного конструкта, полученного посредством инжиниринга тканей и который будет имплантироваться. Для оптимизации механических свойств каркасных материалов разрабатываются полностью искусственные композиты и гибридные материалы. Структура и прочность рассасывающихся каркасов должны также сохраняться до тех пор, пока не будет регенерировано достаточно ткани организма-хозяина.

Каркасы должны производиться по такой технологии, которую можно было бы модернизировать для массового производства, и которая могла бы производить нерегулярную форму, соответствующую нерегулярной форме дефекта в кости пациента.

Каркасы должны производиться в соответствии с предусмотренными требованиями Международной организации стандартов (ИСО) или по стандартам Администрации пищевых продуктов и лекарственных препаратов (FDA) и легко стерилизоваться. Необходимость того, чтобы материалы имплантата получали сертификацию FDA, диктуется безопасностью пациентов, однако это является крупным финансовым препятствием на пути новых разработок каркасов.

18.3. Полимерные каркасы

Рассасывающиеся полимеры – это популярный выбор материала для каркасов, полученных посредством инжиниринга тканей, по трем причинам. *Во-первых*, полимеры легко обрабатываются в форме трехмерных шаблонов с морфологией пор, подходящей для инжиниринга тканей. *Во-вторых*, полимеры могут иметь высокие свойства прочности на растяжения и высокую ударную вязкость, и механические свойства полимеров могут очень легко контролироваться путем изменения молекулярного веса (длины цепи) полимера. *В-третьих*, биорассасывающиеся полимеры успешно использовались в качестве растворяющихся хирургических швов многие годы. Поэтому эти распадающиеся полимеры, в частности полиэфирные полимолочной кислоты (PLA), полигликолевой кислоты (PGA) и поли(молочной-гликолевой) кислоты (PLGA), используются для каркасов. Они выдержали испытания на сертификацию FDA, и шаблоны, изготовленные из этих материалов, могут облегчить получение коммерческого и клинического продукта.

Методы, используемые для производства пористых сетей в полимерах:

- ❖ соединение волокон или плетение;
- ❖ формование окунанием в раствор;
- ❖ выщелачивание частиц соли;
- ❖ сепарация фаз;
- ❖ вспенивание;
- ❖ сушка замораживанием;
- ❖ экструзия.

Для применения многих методов требуется растворить полимер в растворителе.

Выщелачивание – это один из методов, где частицы соли рассеиваются по раствору, перед тем как будет отлит полимер. Частицы соли могут потом раствориться и выйти из пор полимерной матрицы, но этот метод эффективен только для тонких мембран или для трехмерных образцов с очень тонким сечением стенки, в противном случае невозможно удалить растворимые частицы изнутри матрицы полимера.

Вспенивание. Раствор полимера можно также вспенить, для того чтобы получить открытую пористую структуру. Этого можно добиться при помощи

обдувающих реагентов, впрыска газа, суперкритического газирования жидкости или сушки замораживанием.

Полимеры, которые могут использоваться для суперкритического газирования жидкости, должны иметь высокую аморфную фракцию. Гранулы полимера приводятся в пластическое состояние благодаря применению газа, в частности азота или двуокиси углерода, под высоким давлением. Растворение газа в полимерной матрице приводит к уменьшению вязкости, что позволяет обработать аморфные биорассасывающиеся полиэфиры в температурном диапазоне 30–40 °С. Однако в среднем между собой соединяется только 10–30 % пор.

Сушка замораживанием. Полимер растворяется в растворителе и замораживается в жидком азоте, при этом направление роста кристаллов льда контролируется. Замерзший раствор после этого высушивается при уменьшенном давлении, для того чтобы вызвать сублимацию (возгонку) льда, создавая поры, ориентированные макроскопически в направлении замораживания. Сырые материалы после этого спекаются, что обеспечивает прочность каркаса. Могут быть получены большие ориентированные поры с пористостью свыше 90 %. На рис. 47 показана фотография каркаса из пеноматериала PLGA, прошедшего сушку замораживанием, сделанная под сканирующим электронным микроскопом.

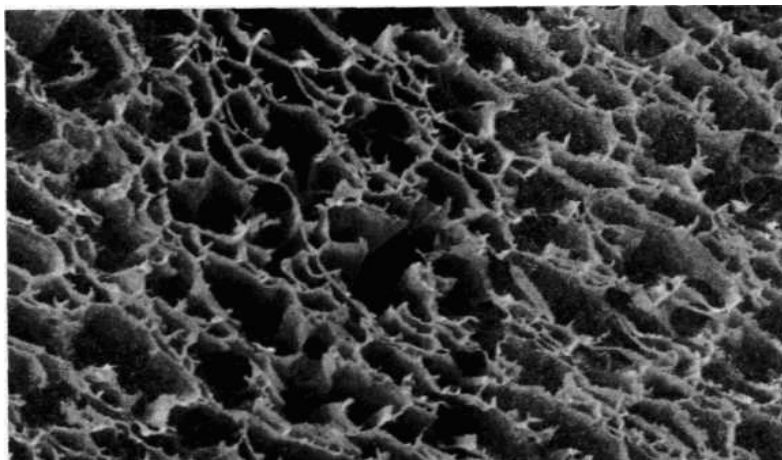


Рисунок 47 – Электронная микрофотография каркаса из PLGA

Использованием биораспадающихся полимеров в качестве каркасов для регенерации кости влечет за собой *ряд проблем*:

✚ распадающиеся каркасы желательны, однако хирургические швы растворяются в течение 2-х недель с момента имплантации, что слишком быстро для применения их для регенерации кости;

✚ хотя рассасывающиеся полимеры могут изготавливаться с высокой прочностью на растяжение и ударной вязкостью и их механические свойства могут сравниваться с коллагеном, модуль Юнга этих полимеров значительно ниже, чем у кости. Поэтому эти полимеры нельзя использовать в местах, подвергающихся нагрузке, где они находятся под действием сжимающих усилий;

✚ механические свойства полимера пропорциональны квадратному корню молекулярного веса и поэтому уменьшаются очень быстро, когда полимер распадается. Биораспадающиеся полимеры, как было установлено, вызывают воспалительную реакцию из-за кислотных побочных продуктов распада.

Полимеры с высокой прочностью на растяжение имеют длинные цепи (высокий молекулярный вес), которые перепутываются друг с другом. Когда к запутанным цепям прикладывается растягивающее усилие, цепи начинают распутываться до полного выпрямления. Максимальная прочность на растяжение полимеров достигается тогда, когда цепи полностью расправляются. Поэтому для того, чтобы полимер был жесткий, он должен иметь молекулярный вес, превышающий величину переплетения. Механизм распада биораспадающихся полимеров заключается в рассечении цепи. Полимеры претерпевают гидролиз, и цепи разрезаются пополам. Средний молекулярный вес полимера поэтому делится примерно пополам при рассечении цепи.

Как правило, полимеры подходят для инжиниринга мягкой ткани (в частности кожи) и соединительной ткани (в частности связок). Природные полимеры, например коллаген, желатин и фибрин, могут также использоваться в качестве каркасов, полученных посредством инжиниринга тканей. Рекомбинантные коллагены человека являются эффективными каркасами для восстановления кости в сочетании с рекомбинантным костным морфогенным белком в пористой, губчатой форме. Они также могут использоваться в качестве мембраны, губки или гидрогеля и служить основой для инжиниринга

кожи, хряща и связок периодонта в зависимости от конкретных требований выбранного случая применения.

Так же произведены высокопористые сополимеры коллагена типа I и хондроитин-6-сульфат (гликозаминогликан или GAG). Они используются в качестве каркасов для регенерации дермы, где они применяются в качестве трансплантата для закрытия глубоких и обширных кожных ран. Они также используются для регенерации нервов в качестве заполнителя камеры, в которую вводятся концы рассеченного нерва.

Гидрогели могут использоваться для инжиниринга тканей способами, отличными от других полимеров, поскольку внутри матрицы геля могут расти клетки, поэтому не всегда обязательны сетки пор. Тем не менее, поры могут внедряться посредством процесса сушки замораживанием.

18.4. Биоактивные керамические каркасы

Керамика – это кристаллические материалы, и поэтому они, как правило, имеют высокую прочность на сжатие и высокий модуль Юнга, но низкую жесткость, т.е. являются хрупкими материалами. Окись алюминия и синтетический гидроксилпатит – это керамические материалы, которые наиболее часто используются в биомедицине.

Окись алюминия – это биоинертный керамический материал, поэтому он не является идеальным для использования в качестве каркасов для регенерации тканей.

Гидроксилпатиты и трикальцийфосфат (ТСП) в виде порошка успешно применялись в клинике как костный наполнитель. Синтетический гидроксилпатит использовался наиболее регулярно, поскольку он имеет аналогичный состав, строение и модуль Юнга с материалом кости. Трикальцийфосфат ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) также аналогичен материалу кости в том смысле, что он является керамическими материалами на основе фосфата кальция, однако ТСП рассасывается. Задача заключается в том, чтобы превратить их в трехмерные пористые каркасы, т.е. в открытую пористую структуру с соответствующими свойствами.

В пористой форме керамические материалы гидроксилпатит и ТСП могут колонизироваться костной тканью. Проблема, связанная с внедрением пор в керамику, заключается в том, что прочность на сжатие материала резко

уменьшается. Прочность каркасов зависит от толщины и прочности стоек или стенок пор.

Самый простейший способ получения пористых каркасов из керамики, например гидроксилпатита, заключается в спекании частиц, желательного размера сфер равного размера. Каркасы затем можно прессовать с помощью холодного изостатического прессования. По мере увеличения температуры спекания диаметр пор уменьшается, а механические свойства усиливаются при увеличении упаковки сфер. Механические свойства могут быть далее увеличены посредством горячего изостатического прессования. Пористость может быть увеличена путем добавления наполнителей (парафин, нафталин, перекись водорода, сахароза, желатин и микробусинки полиметилметакрилата) в порошковую взвесь, которые при спекании выгорают, оставляя поры. Однако этот метод, как правило, уменьшает прочность на сжатие и прочность на сжатие каркаса становится ниже прочности на сжатие губчатой кости.

Большинство способов, используемых для производства полимерных пеноматериалов, не может применяться для керамических систем. Популярный метод производства высокопористых керамических материалов заключается в производстве шаблона из полиуретанового пеноматериала, который можно погрузить в керамические взвеси под вакуумом, чтобы дать возможность взвеси проникнуть в поры пеноматериала. Органические компоненты выжигаются, а керамические пеноматериалы спекаются ($1350\text{ }^\circ\text{C}$), производя каркасы с соединенными друг с другом порами диаметром до 300 мкм.

Керамические взвеси могут быть также приведены в пенное состояние для получения пор в пределах от 20 мкм до 1–2 мм. Включение пузырей достигается путем впрыска газов через жидкую среду, механическое перемешивание, использование обдувающих реагентов, выпаривания соединений или путем преобразования газа в результате химической реакции *in situ*. Для стабилизации пузырей, образовавшихся в жидкой фазе, как правило, используется поверхностно-активное вещество, уменьшающее поверхностное натяжение на стыке газ – жидкость. Поверхностно-активные вещества – это макромолекулы, состоящие из двух частей: одной гидрофобной и одной гидрофильной. В силу такой конфигурации поверхностно-активные вещества стремятся адсорбироваться на стыке газ – жидкость, при этом гидрофобная часть выталкивается из растворителя, а гидрофильная остается в соприкосновении с жидкостью. Такое поведение снижает поверхностное натяжение сты-

ков газ – жидкость, обеспечивая термодинамическую стабильность пенообразных пленок, непрочных при отсутствии поверхностно-активного вещества.

Метод формования окупанием в гель является наиболее успешным методом, применяемым для производства макропористых биоактивных гидроксилapatитных керамических материалов со связанными между собой пораами диаметром более 100 мкм. Суспензии частиц гидроксилapatита и органических мономеров приводятся в пенное состояние путем перемешивания с добавленным поверхностно-активным веществом под азотной атмосферой. Полимеризация *in situ* мономеров, ускоряемая катализатором, создает трехмерную полимерную сеть (гель). Пористые гели спекаются, обеспечивая механическую прочность и выжигая органические растворители. Уже изготовлены пеноматериалы гидроксилapatита с прочностью на сжатие свыше 10 МПа, что аналогично прочности на сжатие губчатой кости. Когда пеноматериалы были имплантированы в большеберцовую кость кроликов, кость частично заполнила поры через 8 недель, и воспалительной реакции не было. Прочность на сжатие утроилась в каркасах, колонизированных костью.

Пористые субстраты гидроксилapatита, производимые вышеуказанными методами, предлагаются в коммерческой сети в виде Endobon® (Мерк, Дармштадт, Германия) и Interpore® (Интерпор Интернэшнел, Ирвин, Калифорния, США).

Встречающиеся в природе пористые структуры рассматриваются для производства из них каркасов гидроксилapatита. Часто используемой структурой является коралл. Используются гидротермические и растворотермические методы для преобразования природного коралла в гидроксилapatит после удаления органического компонента посредством погружения в гидрохлорит натрия. Размер пор в типичных коралловых конгломератах находится в пределах от 200 до 300 мкм. Поры соединены между собой, а строение коралла напоминает строение губчатой кости.

Каркасы гидроксилapatита не удовлетворяют критериям идеальных каркасов потому, что гидроксилapatит рассасывается очень медленно, продукты растворения не индуцируют активность остеогенных клеток, и гидроксилapatит – это всего лишь остеокондуктивный материал, а не остеопродуктивный. Однако, имеется возможность модифицировать состав гидроксилapatита, для того чтобы добиться активации клеточных генов. Ге-

ны активируются посредством малых концентраций (менее 20 частей на миллион) гидратированного кремния ($\text{Si}(\text{OH})_4$), поэтому небольшие количества окиси кремния (SiO_2) могут заменяться на окись кальция (CaO) в синтетическом гидроксилapatите. Эксперименты *in vivo* показали, что рост кости в гранулах гидроксилapatита с замещенным кремнием был значительно больше, чем рост в гранулах фазы чистого гидроксилapatита.

Поэтому матрицы гидроксилapatита с замещенным кремнием отвечают всем критериям идеальных каркасов для инжиниринга костной ткани и не подходят для инжиниринга мягкой ткани.

18.5. Каркасы из биоактивного стекла

Биоактивные виды стекла образуют связь с костью значительно быстрее биокерамических материалов. Это связано с их аморфностью. Растворение произвольной аморфной сетки начинается значительно раньше, чем растворение кристаллического керамического материала. Поэтому гидроксилapatит формируется быстрее на стеклянном, чем на синтетическом гидроксилapatите. *Биоактивные виды стекла могут производиться двумя путями: традиционной плавкой-обработкой и посредством процесса золь-гель.* Биоактивные виды стекла, полученные посредством превращения золь-гель, имеют пористое строение в нанометрическом диапазоне, при этом в результате технологического процесса они получают площадь поверхности на два порядка выше, чем у стекла, получаемого плавкой. Поэтому растворение происходит быстрее, чем у видов стекла, полученных в результате плавки, при одинаковом составе. На этой поверхности имеется множество силаноловых групп, выступающих в качестве зон образования активных центров для формирования слоев гидроксилapatита, что также делает виды стекла, полученные процессом золь-гель, более биологически активными. Растворение биоактивных видов стекла, полученных процессом золь-гель, происходит достаточно долго, чтобы считать биоактивные виды стекла рассасывающимися. При этом скорость рассасывания можно контролировать посредством изменения пористой структуры.

Некоторые методы, используемые для производства пористых керамических материалов, можно применять и к биоактивным видам стекла, но результаты при этом неоднозначны. Для создания каркасов из биоактивного стекла, полученного плавкой (Bioglass®), также использовались вещества,

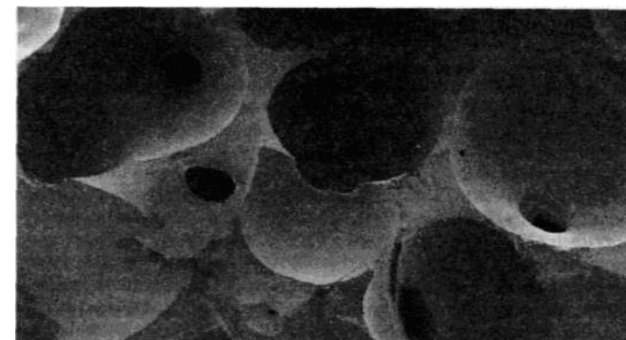
дающие при испарении или сушке поры и пенообразующие реагенты. Были созданы большие поры диаметра порядка 200–300 мкм, при этом общая пористость составляла всего лишь 21 %, и поры находились на большом расстоянии друг от друга. Поэтому данный процесс не смог имитировать соединения губчатой кости.

Теоретически формование окунанием в гель можно было бы применить и в случае биоактивных стеклянных порошков, полученных плавкой. Биоактивные виды стекла претерпевают поверхностные реакции при контакте с растворами, дающими поверхностный слой гидроксилатапата, при этом желательнее контролировать эту реакцию до того, как строительные леса будут готовы к клиническому использованию.

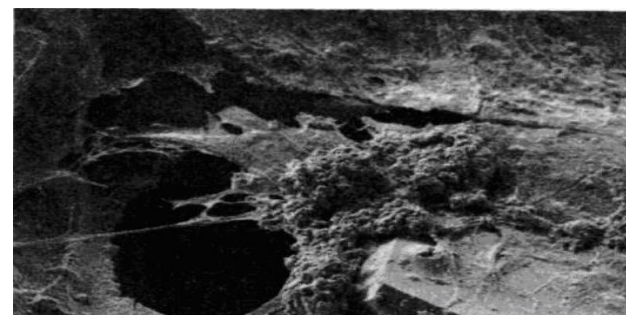
Наиболее успешным методом производства каркасов из биоактивного стекла со структурой аналогичной структуре минерала губчатой кости является пенообразование в биоактивных видах стекла, получаемых процессом золь-гель. Процесс золь-гель предполагает реакции полимеризации исходных веществ стекла в растворе (золь). Золь – это раствор оксидов кремния, формирующий гель путем образования межмолекулярных связей и сетчатой структуры.

Во время процесса пенообразования в золь (раствор) захватывается воздух под действием энергичного смешивания при увеличении вязкости, при этом образуется сетка окиси кремния ($-Si-O-Si-$). Через короткие промежутки времени для стабилизации пузырей добавляется поверхностно-активное вещество. Когда пористая пена становится гелем, пузыри стабилизируются окончательно. После этого гель подвергается контролируемым термическим процессам старения (60 °С) для укрепления геля, сушке (130 °С) и термической стабилизации (спеканию) для удаления органических видов с поверхности материала (500–800 °С). Каркасы из биоактивного стеклянного пеноматериала могут содержать макропоры диаметром до 600 мкм, соединенные окнами пор со средним диаметром более 100 мкм и прочностью на сжатие до 2,5 МПа.

На рис. 48 показана микрофотография, сделанная под сканирующим электронным микроскопом: *а* – видны сети пор типичного пеноматериала из биоактивного стекла; *б* – исследование *in vitro* первичных остеобластов человека показывает, что пеноматериалы стимулируют формирование и минерализацию костных узелков в течение 2-х недель культивирования клеток.



а



б

Рисунок 48 – Микроснимки, сделанные сканирующим электронным микроскопом:

- а* – каркас из биоактивного стеклянного пеноматериала;
- б* – первичные остеобласты человека, выращенные на каркасах из биоактивного стеклянного пеноматериала в течение 2 недель

Единственный критерий идеальных каркасов, не выполняемый шаблонами из биоактивных стеклянных пеноматериалов, – это жесткость при натяжении.

18.6. Композиты

Кость – это природный композит коллагена (полимера) и костного минерала (керамики). Коллагеновые волокна имеют высокую прочность на растяжение и на изгиб и обеспечивают каркас для кости. Костный минерал – это апатит, обеспечивающий жесткость и высокую прочность на сжатие кости.

Очевидно, что методом имитации структуры кости является создание пористых каркасов из композитного материала.

Композиты – это, как правило, полимерная матрица с керамическими или стеклянными волокнами или частицами, усиливающими матрицу. Попытки *создания идеальных каркасов из композитных материалов* привели к использованию PGA / PLLA и поликапролактоновых рассасывающихся полимеров. Для придания не только дополнительной прочности и жесткости, но также и биоактивности к полимерной матрице были добавлены наполнители в виде биоактивной керамики, в частности синтетический гидроксилapatит и трикальцийфосфат. Для доставки в каркас ионов (а не только для обеспечения биологической активности), индуцирующих работу генов, в каркасы из пеноматериала PLGA, показанные на рис. 47, были включены частицы биоактивного стекла. Сохранить рассасываемость и механические свойства каркасов во время рассасывания по-прежнему очень трудно, поэтому поиск идеальных материалов продолжается.

18.7. Контроль за архитектурой

В вышеприведенных разделах рассматривался подбор материалов и способы создания взаимосвязанной пористой сетки. С помощью пенообразования производят подходящие пористые сетки. Несмотря на то, что эти методы позволяют контролировать процент пористости и средний диаметр пор, архитектура отдельных пор и их расположение контролироваться не могут. Некоторые случаи применения инжиниринга тканей требуют градуированной пористости, например множественный стык тканей, в частности трансплантат суставного хряща / кости.

В идеале каркасы должны конструироваться для зоны конкретного дефекта у пациента. Сканирование поврежденной ткани с помощью рентгеновской компьютерной томографии может предоставить данные о точной архитектуре и форме шаблонов, необходимых для содействия регенерации тканей. Эти данные могут быть введены в файлы системы автоматизированного проектирования (САПР). Файлы, в свою очередь, можно будет использовать для задания структуры пористой сетки каркаса с помощью методов изготовления твердой свободной формы (SFF) и быстрого производства прототипов (RP). SFF и RP относятся к технологиям, способным производить трехмерные физические структуры из наборов трехмерных компьютерных данных.

Использование SFF для производства каркасов, главным образом полимерных, в последние несколько лет неизменно расширяется. Среди существующих систем возможными вариантами являются стереолитография, экструзионное свободное формование или моделирование осаждением и плавлением, струйно-чернильная печать и селективное лазерное спекание. На рис. 49 показаны каркасы из полимеров, созданные методом моделирования плавления и осаждения. Этот метод основан на применении полимерной нити, нагреваемой и накладываемой на субстрат слой на слой через сопло, движение которого задается файлом САПР.

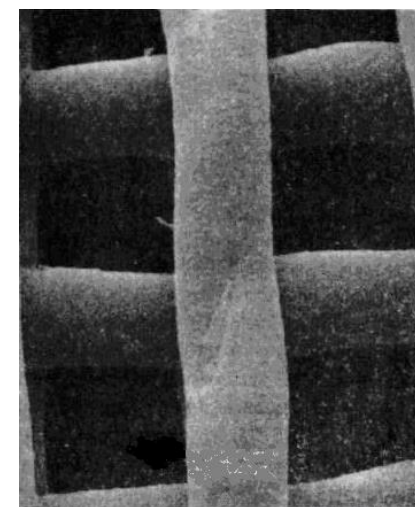


Рисунок 49 – Полимерные каркасы, созданные методом моделирования плавления и осаждения

Быстрое *создание прототипов биокерамики* возможно двумя различными способами: прямым способом, при котором каркасы непосредственно конструируются из файла САПР в окончательной форме, и косвенным способом, при котором сначала делают негатив нужной структуры, используя в качестве формы полимерный воск. Формы заполняются водной взвесью гидроксилapatита, приготовленной обычным способом с помощью вакуум-

ного инфильтрационного устройства. Затем при 1250 °С производится пиролиз формы и окончательное спекание керамических каркасов.

Типичная *схема технологического потока для конструирования и производства каркасов гидроксилатапата с помощью косвенных методов* быстрого создания прототипов (RP) включает три основных этапа: 1) конструирование микроструктуры формы; 2) разработка керамической взвеси; 3) выжигание связующего вещества и спекание.

Реже используется *технология получения каркасов методом прямого изготовления* быстрых прототипов RP с помощью систем чернильно-струйной печати и посредством процесса, имеющего коммерческое название TheriForm™ SFF. Этот процесс предусматривает распределение тонкого слоя порошка на строительном фундаменте, при этом печатающая головка, управляемая компьютером, осаждает капельки жидкого связующего вещества в отобранные районы порошка. Пол порошкового фундамента опускается, и распределяется новый слой порошка, а процесс повторяется до тех пор, пока строительство не будет завершено.

Экструзионное свободное формование – это еще один перспективный метод, используемый для производства каркасов из гидроксилатапата с жестко контролируемой структурой пор. Биоактивные виды стекла еще не использовались в методах RP или SFF.

19. Основы культивирования клеток и использование клеточных культур для производства биоматериалов и инжиниринга тканей

Использование клеточных культур для производства биологических материалов имеет множество преимуществ. В культурах легко манипулировать и контролировать среду для того, чтобы исследовать реакции клеток на биоматериалы и взаимодействие между биоматериалом и клеткой.

Различают *два основных типа культуры клеток*:

- первичная культура;
- культура стабильных клеточных линий.

Первичные культуры получают непосредственно из тканей животных и человека и культивируются либо как маленькие кусочки тканей, либо как отдельные клетки, полученные после обработки тканей ферментами, напри-

мер трипсином и коллагеназой. *Главным недостатком первичных культур* является то, что они *стареют физиологически* и клетки утрачивают способность к делению, а также некоторые фенотипические признаки. *Главное преимущество первичных культур* – это сохранение многих первоначальных характеристик в течение всего ограниченного срока жизни.

Стабильные клеточные линии могут поддерживаться в культуре либо в течение ограниченного числа клеточных делений, либо неопределенно долгий срок. Многие из таких линий получают из опухолевых тканей пациентов, при этом некоторые из клеточных линий становятся бессмертными (иммortalизованными) при внедрении в клетку онкогенных вирусов. Эти клеточные линии могут продуцировать неограниченное число клеток, но клетки сохраняют очень мало специфичных для ткани характеристик.

Для роста клеток, полученных из твердых тканей, требуется прикрепление к субстрату, в то время как клетки, полученные из крови, растут во взвеси. Клетки во взвеси имеют округлую форму, а клетки, прикрепленные к субстрату, различны по форме в зависимости от происхождения.

Как только клетки прикрепятся к субстрату, они начинают делиться и размножаться, образуя плотный непрерывный слой, покрывающий субстрат. Большинство клеток, в особенности первичные клетки, контактируя с соседними клетками, прекращают рост, однако опухолевые клетки обычно имеют тенденцию к трехмерному росту с образованием множества слоев. Клетки в культуре, занимающие 70–80 % субстрата, в идеале можно обрабатывать трипсином, и затем пересевать часть клеток в новый флакон со свежей культуральной средой, т.е. получать субкультуры.

Для роста *in vitro* клеткам необходимы углеводы, соли, аминокислоты, витамины, жирные кислоты и белки. Основная культуральная среда содержит важные неорганические соли, аминокислоты, глюкозу, витамины, жирные кислоты и некоторые белки. Она также содержит краситель феноловый красный и буферную систему на основе бикарбоната. Большинство клеток в культуре требуют оптимального pH в пределах от 7,2 до 7,4. Буферная система на основе бикарбоната в сочетании с атмосферным 5 %-ым CO₂ поддерживает оптимальный средний pH. Феноловый красный в среде служит индикатором pH: он имеет розовый цвет при оптимальном pH, изменяет цвет на желтый, когда среда становится кислой, и на бордовый, когда среда становится щелочной. Основная или минимальная среда обычно дополняется

10–15 %-ной эмбриональной сывороткой крупного рогатого скота (FBS), обогащенной белками и факторами роста. Сочетание антибиотиков и / или антигрибковых препаратов может также использоваться в культуре клеток во избежание заражения клеток бактериями и грибами. Клетки выращиваются во влажном термостате при 37 °С (оптимальная температура) в атмосфере, содержащей 5 %-ый CO₂. Во избежание микробного заражения при обращении с клетками, в культуре необходимо соблюдать стерильность.

19.1. Стерилизация

Стерилизация – это нейтрализация живых микроорганизмов (грибков, простейших, бактерий, микоплазм и вирусов), попавших в культуру из окружающей среды. Микроорганизмы существуют везде: в воздухе, на теле человека и на поверхности предметов. Поэтому успешная изоляция микроорганизмов очень важна при работе с культурами клеток. Инфекция приводит к гибели клеток, снижается их рост и нарушается экспрессия клеточных белков, что ведет к искажению результатов эксперимента.

Работа в лаборатории и основные асептические лабораторные методы. В лаборатории должна постоянно поддерживаться хорошая лабораторная практика (GLP). Директивы, описывающие GLP, для стран Европейского Союза можно найти в Организации экономического сотрудничества и развития. *Соблюдение принципов GLP в лабораториях обеспечивает точность, воспроизводимость и возможность отслеживания результатов.*

Директивы GLP касаются общих процедур, позволяющих успешно выполнить эксперимент в отсутствие основного исследователя, и обеспечивают повторяемость эксперимента. GLP включает правильное планирование экспериментов, письменную регистрацию всех выполненных экспериментальных процедур (в лабораторной книге), обучение, по крайней мере, двух специалистов, способных самостоятельно выполнить эксперимент и соответствующую маркировку этикетками всех веществ, сред, культур (наименование, дата, описание, номер пассажа и тип клеток). Следует обязательно письменно регистрировать методики или стандартные операционные процедуры (SOP), а также содержать лабораторное оборудование в чистоте. GLP также сводит до минимума любой потенциальный риск биологической опасности для исследователя.

При культивировании клеток следует обязательно выполнять общие асептические приемы:

- следует обязательно надевать одноразовые перчатки (например, из нитрила) при работе в лаборатории с культурами клеток;
- надевать чистые лабораторные халаты, которые ни в коем случае не выносить из лаборатории;
- перед началом работы рабочие участки и руки в перчатках следует протирать 70 %-ным спиртом;
- работать только в специально обозначенных «чистых зонах», в частности в ламинарном шкафу для культур тканей;
- все предметы и руки в перчатках должны протираться 70 %-ным спиртом при каждом входе в стерильную зону, например бокс, ламинарный шкаф или термостат;
- стерильные флаконы или колбы следует открывать только в ламинарном шкафу непосредственно перед использованием и ни в коем случае не оставлять открытыми;
- стерильные одноразовые пипетки должны доставаться из упаковок внутри ламинарного шкафа и только непосредственно перед использованием;
- когда со стерильных флаконов или колб снимаются крышки, по возможности крышку не следует класть на рабочий стол, открытый флакон нужно наклонить, чтобы микроорганизмы из среды попадали только на край флакона;
- жидкости не следует брать из разных флаконов одной и той же пипеткой; для каждого флакона должна использоваться новая стерильная пипетка;
- при выполнении процедур с культурой клеток нельзя разговаривать, кашлять или чихать;
- работа должна выполняться как можно быстрее во избежание инфекции клеток.

Существуют некоторые лабораторные процедуры, где перечисленные выше правила невыполнимы. Поэтому необходимо помнить, что микроорганизмы находятся везде, и принимать меры по сведению инфекции до минимума.

Методы стерилизации. Существует несколько методов стерилизации лабораторного оборудования и / или образцов, в частности *нагревание, фильтрация через поры диаметром 0,2 мкм, химическая очистка* (моющее

вещество или спирт) и *ультрафиолетовое облучение*. Большинство микроорганизмов успешно нейтрализуется (уничтожается) при температуре 55–80 °С, поэтому широко используются методы стерилизации более высокой температурой, а именно *кипячение*. Однако эндоспоры и прионы могут сохраниться и при кипячении, поэтому в большинстве лабораторий, культивирующих клетки, наиболее распространенным и *эффективным методом является обработка в автоклаве*. В автоклавах пар образуется при температуре около 134 °С под давлением. Большинство современных автоклавов также включают функцию сушки в конце цикла. Преимущества и недостатки обычных способов стерилизации приводятся в табл. 12.

Таблица 12 – Преимущества и недостатки обычных способов стерилизации

Метод стерилизации	Описание и случаи применения	Преимущества	Недостатки
1	2	3	4
Обработка в автоклаве	Пар, создаваемый при 120–134 °С под давлением. Обычно используется для лабораторного оборудования, т.е. наконечников пипеток, пинцетов и т.д.	Эффективно уничтожает большинство микроорганизмов (возможно, за исключением некоторых белков – прионов)	Не подходит для стерилизации сред, так как уничтожаются питательные вещества. Может изменить свойства материала. Требует регулярных проверок давления
Фильтры с порами 0,2 мкм	Среды или другие чувствительные к нагреванию жидкости пропускаются через стерильный фильтр с порами 0,2 мкм	Простые и неинвазивные для удаления бактерий и грибков из жидкостей	Микоплазма и вирусы не удаляются. Должно выполняться в стерильных условиях
Ультрафиолетовый свет	Обычно используется для стерилизации поверхностей и воздуха после уборки помещения	Нейтрализует микроорганизмы и вирусы	Плохая проникающая способность. Не подходит для стерилизации сред

Продолжение таблицы 12

1	2	3	4
Химический метод: 70 %-ный спирт	Широко используется в качестве очищающего реагента. При стерилизации материалов иногда используется более продолжительное время воздействия	Низкая токсичность (по сравнению с другими химическими дезинфицирующими веществами), удобен	Не всегда эффективен против некоторых грибков, бактериальных эндоспор и некоторых вирусов
Химический метод: газ оксид этилена (ЕТО)	Часто используется для медицинских материалов	Безвредный для большинства материалов, высокие уровни стерильности	Не может стерилизовать жидкости, герметичные контейнеры и некоторые пластмассы. Требует много времени (3–7 дней), требуется специализированное оборудование
Печи горячего воздуха (сухое нагревание, как правило 170 °С в течение 2-х часов)	Обычно используется для стерилизации стеклянной посуды и металлических предметов	Смачивание отсутствует	Требует более продолжительная обработка при более высоких температурах по сравнению с автоклавом. Не подходит для пластмассовых изделий

Стерилизация образцов материалов. Инжиниринг тканей требует, чтобы клетки росли на самых разнообразных материалах или каркасах, и важно, чтобы эти материалы были соответствующим образом стерилизованы перед использованием. Кроме нейтрализации микроорганизмов, также *крайне важно, чтобы метод стерилизации не изменял свойства материала*. Например, многие каркасы тканей зачастую являются рассасывающимися, и поэтому методы мокрой стерилизации использоваться не должны, в то время как ультрафиолетовый свет может стерилизовать только поверхность и не может

проникать через пористую структуру. Аналогичным образом нагревание или химическая стерилизация может изменить химический состав и / или механические свойства материала, например поликапролактон (биорассасывающийся полимер) плавится при 60 °С. Дополнительным моментом, который необходимо иметь в виду, является удаление токсических веществ, используемых в процессе стерилизации, в частности спирта или газа (оксида этилена).

Кроме удаления живых микроорганизмов, при исследовании материалов также *большое значение имеет удаление фрагментов мертвых микроорганизмов* (в частности, бактерий). Эндотоксины – это бактериальные отходы, крепко приклеивающиеся к материалам. Эндотоксины могут вызывать клеточные реакции таким же образом, как будто это происходит в условиях *in vivo*, когда клетка встречается с бактерией в организме. При этом клетки продуцируют вещества – медиаторы воспаления для привлечения иммунных клеток и борьбы с инфекцией. Поэтому *в исследованиях биоматериалов часто производится мойка образцов как дополнение к стерилизации.*

Значение соответствующей мойки и стерилизации в исследованиях биоматериалов подчеркивается экспериментами с частицами ортопедического износа. В ортопедических имплантатах из сочленяющихся поверхностей часто образуются частицы износа (замена бедра или колена). Считается, что частицы износа вызывают воспалительную реакцию, которая, в конечном счете, приводит к эрозии кости и выходу имплантата из строя. Для понимания этого воспалительного процесса и *для конструирования материалов, ограничивающих воспаление, в лабораторных условиях изучается реакция клеток на частицы износа различного химического состава, размеров и форм.* Однако противоречивые доклады, подготовленные различными лабораториями, работающими в одной и той же области, значительно затруднили выработку единого мнения. Не так давно несколько исследователей высказали предположение о том, что противоречивые результаты могут быть следствием незафиксированного документально присутствия эндотоксинов на частицах износа, что определяется относительным успехом или неудачей применяемых различных методов стерилизации. Они предположили, что клетки реагируют не на частицы, а скорее на присутствие или отсутствие эндотоксина. Было доказано, что промывание частиц износа в 70 %-ном этаноле в течение 24 часов успешно удаляет эндотоксины до незначительного уровня.

При исследовании материалов широко применяется коммерческий тест на эндотоксины грамотрицательных бактерий, содержащий лизат амебоцитов мечехвоста (*Limulus polyphemus*).

Для тестирования состояния клеток и контаминации (засорения) культуры следует выполнять приведенные ниже процедуры.

- Проверить культуральную среду. Если среда мутная, есть вероятность бактериальной инфекции (для прикрепленных на субстрате клеток).
- Определить число прикрепленных клеток по сравнению с числом плавающих клеток. Плавающие клетки – это, как правило, мертвые клетки.
- Исследовать морфологию клетки. Как правило (в зависимости от типа клетки), прикрепленные здоровые клетки распластаны и имеют веретеновидную удлинненную форму, иногда с отростками, округлые клетки – это либо делящиеся клетки, либо гибнущие клетки.
- Надо искать гигантские клетки. В большинстве культур частота таких клеток относительно низкая и постоянна при одинаковых условиях культивирования.
- Определить скорость, с которой клетки прикрепляются и приступают к делению после пассажа. Прикрепление в течение 1–4 часов свидетельствует о том, что клетки не травмированы.
- В то время как грибковые и бактериальные инфекции обнаруживаются относительно легко, то заражение микоплазмой невидимо и поэтому более трудное для распознавания. Наборы для распознавания микоплазмы имеются в продаже и должны использоваться, если возникают признаки инфекции.

19.2. Протоколы ведения клеточных культур

Большинство имеющихся в продаже клеток приобретается в замороженном виде. После получения эти замороженные клетки должны незамедлительно переводиться в жидкий азот для хранения. В ниже приведенном протоколе дается описание того, как оживить замороженные клетки, хранящиеся под жидким азотом.

Протокол размораживания клеток.

1. Подготовить среду для выращивания клеток.
2. Подогреть среду.
3. Наклеить этикетку на культуральный флакон и на центрифужную пробирку объемом 15 мл.

4. Добавить 8 мл среды в центрифужную пробирку.
5. Достать ампулу, содержащую клетки, из банка жидкого азота (необходимо надеть термические перчатки и маску).
6. Оставить ампулу при комнатной температуре примерно на 1 мин, но не дольше.
7. Перенести ампулу в водяную баню при 37 °С и дать ей оттаивать около 4 мин.
8. Вытереть ампулу салфеткой, смоченной в 70 %-ном спирте, и перенести сразу же в ламинарный шкаф.
9. Аккуратно пипеткой внести клетки в центрифужную пробирку.
10. Промыть ампулу в 1 мл свежей среды, и добавить в пробирку.
11. Осадить клетки в пробирке при 200 x g в течение 5 мин.
12. Удалить надосадочную жидкость, не задевая осадок.
13. Встряхнуть пробирку для того, чтобы поднять осадок.
14. Добавить 1 мл свежей среды и аккуратно суспендировать клетки пипеткой.
15. Добавить необходимое количество культуральной среды во флакон.
16. Добавить во флакон со средой суспензию клеток и хорошо перемешать.
17. Поставить флакон в термостат.

Когда клетки покроют 70–80 % поверхности флакона, их нужно пассировать на материалы или во флаконы со свежей средой. С каждой субкультурой число пассажей растет. Для воспроизводимости эксперимента число пассажей в культуре должно быть одинаковым в различных экспериментах с культурами клеток. Увеличение числа пассажей может привести к фенотипическим изменениям в клетках.

Протокол субкультивирования прикрепленных клеток.

1. Подготовить среду для роста.
2. Подогреть среду, а также растворы трипсина с этилендиаминтетрауксусной кислотой (трипсин-EDTA) и фосфатный солевой буфер (PBS) без Ca^{2+} и Mg^{2+} .
3. Снять среду с клеток во флаконе и слить.
4. Промыть клетки PBS.
5. Добавить трипсин-EDTA (приблизительно 1 мл на 25 см²).
6. Встряхнуть флакон, чтобы накрыть раствором монослой клеток.

7. Держать колбу в термостате при 37 °С в течение 4 мин.
8. Проверить под микроскопом отделение клеток от стенки флакона и убедиться в том, что клетки плавают.
9. Осторожно постучать по бокам флакона, для того чтобы открепить оставшиеся прикрепленными клетки.
10. Добавить культуральную среду во флакон в объеме, равном двойному объему трипсина, и перемешать.
11. Перенести суспензию клеток в центрифужную пробирку.
12. Центрифугировать пробирку при 200 x g в течение 5 мин.
13. Удалить надосадочную жидкость, не задевая осадок.
14. Встряхнуть пробирку, чтобы поднять осадок.
15. Добавить 1 мл свежей среды, осторожно ресуспендировать клетки пипеткой.
16. Сосчитать клетки, пользуясь красителем трипановым синим.
17. Добавить необходимое количество среды во флакон с этикеткой.
18. Добавить необходимое количество суспензии клеток во флакон и перемешать, покачивая флакон.
19. Перенести флакон в термостат.

Хранение замороженных клеток – это очень важная процедура в культуре клеток. Она позволяет хранить запас клеток в течение продолжительного периода времени (например, многие годы). Она уменьшает риск заражения, риск фенотипических изменений, затраты и необходимость постоянно поддерживать линии клеток в культуре. Она также позволяет осуществлять эксперименты с постоянным числом пассажей культуры клеток.

Протокол замораживания прикрепленных клеток.

1. Приготовить замораживающую среду (10 %-ный диметил сульфоксид (DMSO) + 90 %-ный PBS).
2. Подогреть среду для хранения замороженных клеток, культуральную среду, раствор трипсина с EDTA и PBS (без Ca^{2+} и Mg^{2+}).
3. Выполнить пункты 3–14 предыдущего протокола субкультивирования.
4. Добавить 1 мл среды для хранения замороженных клеток и приготовить равномерную суспензию клеток посредством многократного осторожного перемешивания с помощью пипетки.

5. Произвести подсчет клеток и разбавить суспензию клеток средой для хранения клеток, чтобы концентрация составила $(2-4) \times 10^6$ клеток на мл.

6. Добавить 1 мл суспензии клеток в ампулу с этикеткой (криопробирку).

7. Поместить ампулу в замораживающую колбу, содержащую изопропанол, и оставить ее на ночь в морозильнике при минус 80 °С.

8. Перенести ампулу в банк жидкого азота и записать ее координаты в журнале.

Посев клеток на материалах. Для воспроизводимости результатов важно определить число клеток, посеянных на квадратный сантиметр материала. Только при постоянстве числа клеток в разных экспериментах можно точно оценить свойства биологического материала, в частности рост клеток, прикрепление или продукцию клеточных факторов.

Тест на окрашивание трипановым синим постоянно используется для определения плотности посева. *Трипановый синий* – это прижизненный краситель, не окрашивающий клетки, у которых мембрана не повреждена. *Клетки, не поглощающие краситель, являются жизнеспособными.* Соотношение жизнеспособных и мертвых клеток можно определить с помощью гемоцитометра.

Тест на окрашивание клеток трипановым синим.

1. Приготовить суспензию клеток в соответствии с протоколом субкультивирования.

2. Подготовить гемоцитометр и покровное стекло, распылив на них 70 %-ный спирт и вытерев чистой салфеткой.

3. Прикрепить покровное стекло к гемоцитометру, смочив покровное стекло водой или выдыхаемым воздухом. Надеть покровное стекло на камеру и перемещать вперед и назад, создавая небольшое давление, до тех пор пока не появятся ньютоновы кольца (радужные кольца).

4. Внести 0,2 мл соответствующей суспензии клеток (в полной питательной среде) в герметичный флакон.

5. Добавить 0,2 мл 0,4 %-ного трипанового синего и тщательно перемешать (коэффициент разбавления = 2).

6. Дать красителю отстояться в течение 2–3 мин при 15–30 °С (комнатная температура). Продолжительное воздействие трипанового синего убивает клетки.

7. Пипеткой заполнить обе камеры гемоцитометра. Не заполнять камеру слишком большим количеством среды и проследить за тем, чтобы не было воздушных пузырей.

8. Под микроскопом подсчитать количество живых (неокрашенных) и нежизнеспособных (окрашенных в синий цвет) клеток в 8–10 квадратах 4×4 (или на площади $0,1 \text{ см}^2$).

19.3. Основные методы оценки жизнеспособности клеток

Оценка прикрепления клеток и распределения клеток на материалах с помощью электронного микроскопа (SEM).

1. Вырастить клетки в культуральных флаконах.

2. Для получения клеточной суспензии следовать протоколу по субкультивированию клеток.

3. Сосчитать клетки, пользуясь протоколом окраски трипановым синим.

4. Определить плотность клеток, необходимую для посева на материалах.

5. Высеять клетки и дать возможность им вырасти в течение необходимого периода времени.

6. Не капать и не наливать растворы поверх клеток (существует очень большая вероятность смыва клеток).

7. Дважды промыть клетки PBS.

8. Закрепить клетки на поверхности 2,5 %-ным глутаровым альдегидом в PBS в течение 40 мин при 4 °С.

9. Дважды промыть клетки PBS.

10. Обезводить этанолом в возрастающей концентрации:

- 25 % – 5 мин;
- 50 % – 5 мин;
- 70 % – 5 мин;
- 90% – 5 мин;
- 100 % – 5 мин.

11. Инкубировать клетки с гексаметилсилазаном (HMDS) в течение 5 мин.

12. Инкубировать клетки со свежим HMDS в течение 5 мин.

13. Напылить на образцы коллоидный раствор золота.

14. Рассмотреть под сканирующим электронным микроскопом.

Колориметрия с использованием МТТ.

Определение состояния клеток с помощью МТТ – это колориметрическая тестовая система, измеряющая восстановление компонента тетразола (МТТ) в нерастворимый продукт формазан в митохондриях живых делящихся клеток. После инкубации клеток с МТТ в среду добавляют детергент, лизирующий (разрушающий) клетки и растворяющий цветные кристаллы формазана. Затем образцы анализируются на фотоколориметре. Интенсивность цвета прямо пропорциональна количеству жизнеспособных митохондрий и живых клеток. Система МТТ – это количественный, более чувствительный тест, чем тест с использованием трипанового синего, поскольку существует линейная зависимость между активностью клеток и их способностью поглощать МТТ; может измеряться скорость роста или гибели клеток. Тест с использованием трипанового синего является качественным и показывает только, жива ли клетка.

Протокол теста с использованием МТТ для прикрепленных клеток в пластиковых планшетах с 96 ячейками приводится ниже.

1. Приготовить раствор 5 мг/мл МТТ, растворенного в PBS, и стерилизовать его через фильтр.
2. За 5 часов до окончания инкубации добавить 20 мкл раствора МТТ (пункт 1) в каждую ячейку планшета, содержащую клетки.
3. Инкубировать планшеты в термостате с CO₂ при 37 °С в течение 5 часов.
4. Удалить среду с помощью иголки и шприца.
5. Добавить по 200 мкл DMSO в каждую ячейку и осторожно перемешать с помощью пипетки, чтобы растворить кристаллы.
6. Инкубировать клетки при 37 °С в течение 5 мин.
7. Перенести на считывающее устройство фотоколориметра и измерить поглощение при длине волны 550 нм.

Если используются более крупные планшеты с большим количеством ячеек, надо изменить объемы в соответствии с числом ячеек.

20. Иммунохимические методы в инжиниринге тканей и наука о биоматериалах

Материалы, имплантируемые в организм, неизменно вызывают местную (возможно и системную) биологическую реакцию. Традиционно имплантаты из биоматериалов были предназначены для ограничения биологической (и иммунной) реакции на материал, для создания «биологической инертности». В последнее время исследования фокусируются на модифицировании биологической реакции за счет изменения свойств материала и влияния на физиологическую среду, например биораспадающиеся или биоактивные материалы. В случаях применения инжиниринга тканей существенными составляющими успеха являются понимание и оптимизация клеточной реакции на каркасы тканей как до, так и после имплантации.

Биологическая реакция на биоматериалы или каркасы тканей определяется рядом факторов, включая топографию поверхности, химический состав, скорость рассасывания, тип продукта растворения и механические свойства. Поэтому разрабатываются материалы с конкретными биологическими свойствами в зависимости от случая применения. Некоторые биоматериалы предназначены способствовать адгезии, специфичной для клетки, в то время как другие биоматериалы требуют противoadгезивных свойств. Например, активно стимулируется остеоинтеграция (формирование кости) вокруг ортопедических имплантатов для предотвращения ослабления имплантата, т.е. с модификациями топографии поверхности или проадгезивными / биоактивными покрытиями, в то время как для предотвращения адгезии белка и клеток и образования тромбов разрабатываются другие биоматериалы, в частности сосудистые стенты. В связи с этим значительный объем исследований посвящен наблюдению за клеточными взаимодействиями с биоматериалами и строительными материалами тканей как *in vivo* (в живом организме), так и *in vitro*, (в лаборатории).

Иммунохимические методы – это основные методы, которые используются для определения реакции клеток на биоматериалы. Они позволяют обнаружить белки / молекулы, играющие в клетках известную физиологическую роль. Например, иммунохимические методы могут обнаруживать белки, участвующие в прикреплении клеток, активации клеток, смерти клеток и воспалении. Воспаление – это локальная биологическая реакция, вызываемая

повреждением или разрушением тканей, которая удаляет, разбавляет или изолирует как поражающий реагент, так и поврежденную ткань.

Понимание этих клеточных процессов является жизненно важным для исследования и конструирования биоматериалов и инжиниринга тканей. Иммунохимические методы являются крайне специфическими и чувствительными, способными обнаруживать небольшие отличия молекул в присутствии близкородственных инфекционных агентов. Например, различаются макромолекулы, содержащие L- и D-формы одной аминокислоты в сыворотке. Для определения клеточной реакции на биоматериалы изучают экспрессию генов путем обнаружения иРНК, широко используются такие методы молекулярной биологии, как полимеразная цепная реакция, гибридизация *in situ* (на месте, локально) и нозерн-блоттинг.

Одним из преимуществ иммунохимических методов является то, что они могут распознавать окончательный, т.е. посттрансляционный, белковый продукт, а не предтрансляционный продукт в виде иРНК, обнаруживаемый методами молекулярной биологии. Более того, иммунохимические методы также предусматривают специфическую локализацию *in situ* межклеточных или внеклеточных молекул.

20.1. Основные иммунологические принципы

Для практического использования иммунохимических методов базовое понимание иммунологии не является существенным. *Основопологающим принципом иммунохимических методов* является то, что специфическое антитело присоединяется к специфическому антигену. *Антиген* – это инородное вещество или молекула, вызывающая иммунную реакцию. *Эпитоп* – это место присоединения антитела к антигену; каждый антиген может содержать один или более эпитопов, которые узнаются конкретным антителом.

Антитела представляют собой класс белков, называемых иммуноглобулинами (Ig), которые синтезируются В-клетками, или В-лимфоцитами. Молекулы иммуноглобулинов имеют Y-образную форму и состоят из четырех полипептидных цепей, каждая из которых состоит из двух идентичных легких цепей и тяжелых цепей, соединенных вместе дисульфидными мостиками. Каждая цепь имеет константный район, являющийся одинаковым для всех иммуноглобулинов определенного класса, и переменный район, соединенный с конкретным антигенным эпитопом. Существует пять типов кон-

стантных районов, образующих пять классов иммуноглобулинов млекопитающих, а именно: IgM, IgA, IgD, IgE и IgG. Антитело, специфичное для антигена, называется *первичным антителом*. Антитела важны для специфической гуморальной иммунной реакции (памяти) на инфекцию *in vivo*.

Информация о получении антител и целевых эпитопов важна для правильной интерпретации результатов иммунохимических методов. Поликлональные антисыворотки (сыворотки, содержащие различные антитела) получают, вводя известный антиген животным, которые в ответ продуцируют видоспецифичные антитела. Поликлональные антисыворотки содержат несколько различных антител к белку-мишени и поэтому могут реагировать с множественными изоформами антигена-мишени, или таргетного антигена, увеличивая, таким образом, чувствительность метода. Однако большее число различных антител, направленных на белок-мишень, увеличивает вероятность перекрестной реактивности с аналогичными эпитопами в других белках, а значит, увеличивает и возможность ложноположительной реакции. Моноклональные антитела продуцируются лимфоцитами – потомками одной В-клетки, поэтому их молекулы идентичны. Моноклональные антитела распознают только одну изоформу белка-мишени, таким образом увеличивая специфичность, но уменьшая чувствительность по сравнению с поликлональными антителами. Поэтому между чувствительностью и специфичностью существует компромисс.

За инкубацией первичного антитела следует инкубация с биотинилированным вторичным антителом против первичного антитела. Конъюгат стрептавидина с ферментом (пероксидазой хрена или кислой фосфатазой) реагирует с биотинилированным вторичным антителом. После этого в реакционную смесь добавляют субстраты и хромогены для образования нерастворимых окрашенных продуктов.

Большинство иммунохимических методов являются прямыми или непрямими. *В прямой иммунохимической процедуре* первичное антитело метят с помощью флуоресцентного красителя или молекул биотина. *В непрямой иммунохимической процедуре* мечение заключается в том, что метка (маркер) присоединяется к немеченому первичному антителу. Маркеры, или маркирующие реагенты – это, как правило, видоспецифичные вторичные антитела, например меченные флуоресцентным красителем или биотином мышинные антитела против антител человека.

В то время как *непрямое мечение* создает дополнительный этап и отсюда занимает больше времени, у него *есть несколько преимуществ по сравнению с прямым мечением*:

- первичных антител обычно мало, а косвенное иммунологическое обнаружение позволяет избежать потерю первичных антител во время мечения;
- непрямая маркировка увеличивает чувствительность, поскольку несколько маркирующих реагентов может связываться с первичным антителом;
- в продаже относительно мало меченных первичных антител.

20.2. Распространенные иммунохимические методы, используемые в науке о биоматериалах

Иммунохимические методы используются для обнаружения экспрессии конкретного антигена, продуцируемого на поверхности клетки, внутри клетки, высвобождаемого клеткой или экспрессируемого во внеклеточном матриксе. У каждого иммунохимического метода имеются преимущества и недостатки, но выбор метода главным образом зависит от типа экспрессируемого антигена, типа используемого материала и важности качественных данных по сравнению с количественными.

Например, если исследователя интересует количество фактора, стимулирующего колонию макрофага (M-CSF-фактора, имеющего большое значение в отборе остеокластов), который продуцируется костными клетками, выращиваемыми на различных материалах, то лучшим иммунохимическим вариантом будет иммуноферментный метод (ELISA), поскольку он позволяет получить данные о количестве белка, присутствующего в отобранной культуральной среде. Исследователь должен также учитывать, что большинство биоматериалов и каркасов тканей являются светонепроницаемыми, и поэтому, для того чтобы наблюдать клеточное прикрепление и поведение *in situ*, должна использоваться иммунофлуоресцентная или иммуноэлектронная микроскопия. Когда клетки открепляются от подложки для вестерн-блоттинга или сортировки флуоресцентно меченых клеток (FACS), это может повлиять на экспрессию клеточного или внеклеточного белка или иммуногенность.

В табл. 13 приводятся преимущества и недостатки методов иммуноцитохимии в исследованиях биоматериалов и в инжиниринге тканей.

Таблица 13 – Преимущества и недостатки методов иммуноцитохимии в исследованиях биоматериалов и в инжиниринге тканей

Иммуноцитохимический метод	Преимущества	Недостатки	Применение
1	2	3	4
Иммуногистохимия и иммуноцитохимия	Локализация антигенов <i>in situ</i> . Окрашивание остается на многие годы. Относительно дешевый метод – не требуется никакого специализированного оборудования	Не подходит для светонепроницаемых материалов. Качественный и субъективный без компьютерного анализа	Широко используется для патоморфологии образцов, например для диагностики заболеваний по результатам биопсии
Иммунофлуоресценция	Имеет те же преимущества, что и иммуногистохимия, также позволяет обнаружить клетки, выращенные на светонепроницаемых материалах <i>in situ</i> . Одновременная локализация нескольких антигенов в одной и той же клетке	Флуоресценция со временем тускнеет. Требуется относительно дорогого флуоресцентного микроскопа. Некоторые биоматериалы самопроизвольно флуоресцируют	Широко используется в исследовании клеток как <i>in situ</i> , так и <i>in vitro</i>
Нозерн-блоттинг	Чувствительный, специфичный и дающий неполную количественную оценку в зависимости от интенсивности полосы гибридизации	Клетки подвергаются лизису перед анализом, отсюда невозможно локализовать экспрессию антигена, специфичную для клетки	Широко используется в исследованиях клеточных культур и тканевых срезов

Продолжение табл. 13

1	2	3	4
Имуноферментный анализ (ELISA)	Количественно выражаемое обнаружение антитела или антигена. Относительно быстрый и позволяет обнаруживать растворимые факторы, выпускаемые клетками. Очень чувствительный. Относительно дешевое оборудование	Часто ограничивается продаваемыми наборами ELISA. Не позволяет локализовать антигены на месте	Часто используется для обнаружения медиаторов, продуцируемых клетками в культуральной среде, и для диагностического обнаружения в человеческой сыворотке антител, специфичных для заболевания
Сортировка флуоресцентно меченных клеток (FACS)	Позволяет количественно определить пропорцию клеток, экспрессирующих определенный антиген (антигены)	Клетки должны быть отделены от материала перед анализом. Требуется большое количество оборудования	Широко используется в исследованиях клеточных культур и тканевых срезах
Имуноэлектронная микроскопия	Большое увеличение, обеспечивающее субклеточное обнаружение антигенов. Может выполняться на светонепроницаемых материалах	Дорогой и требующий много времени метод. Требуется электронная микроскопия	Позволяет обнаружить антигены в клетке

Методы иммуногистохимии, иммуноцитохимии и иммунофлуоресценции (которые все вместе называются иммуноокрашиванием) позволяют обнаружить антигены, экспрессируемые клетками либо на срезах тканей (иммуногистохимия), либо в культуре клеток *in vitro* (иммуноцитохимия). Имму-

нофлуоресценция выполняется как на срезах тканей, так и в культурах клеток *in vitro*.

На сегодняшний день наиболее широко используемым методом иммуноокрашивания является непрямое одноразовое окрашивание биотин-стрептавидином. Этот метод основывается на крайне высоком сходстве стрептавидина и биотина. Базовый набор реагентов состоит из первичного антитела, биотинилированного вторичного антитела (другого вида по отношению к первичному) и маркированного ферментом стрептавидина (обычно стрептавидин соединен со щелочной фосфатазой (AP) или с пероксидазой хрена (HRP)), за которым следует добавление раствора субстрата. Реакции фермента с субстратом преобразуют бесцветные хромогены в окрашенные конечные продукты. Этот метод часто называют мечением стрептавидин-биотином (LSAB), он имеет большую чувствительность, чем другие аналогичные методы иммуногистохимии.

Иммуноокрашивание клеток *in vitro* производится так же, как и иммуногистохимия, за исключением метода фиксирования, времени инкубации антитела и более тщательного отмывания реагентов для предотвращения открепления клеток. Существует несколько наборов, усиливающих сигнал, если антигенов мало или окрашивание слабое, например система Envision®. В этих системах часто используют молекулу инертного полимера, связанного с ферментом (HRP или AP) и с вторичными антителами. Полимер содержит, в среднем, 10 молекул вторичного антитела и 70 молекул пероксидазы хрена. Увеличение числа молекул фермента усиливает интенсивность окрашивания и уменьшает время инкубации.

Имунофлуоресценция обладает основным преимуществом в исследованиях биоматериалов, выражающимся в том, что исследователь может увидеть клетки на светонепроницаемых материалах (см. табл. 13). Вместо вторичного антитела, меченного биотином, которое используется в методе LSAB, в иммунофлуоресценции используются первичные или вторичные антитела с флуоресцентной меткой. Иммунофлуоресценция также позволяет локализовать сразу несколько антигенов, экспрессируемых в одной и той же ткани или в клетках благодаря различно окрашенным флуорохромам. Различные первичные антитела, полученные после иммунизации различных животных, могут смешиваться и инкубироваться вместе, после чего следует добавление видоспецифичных флуоресцентно меченных вторичных антител.

Конфокальная иммунофлуоресцентная микроскопия – относительно новый метод отраженной флуоресцентной световой микроскопии, в которой тонкий лазерный луч света сканирует объект через линзу объектива. Она имеет несколько преимуществ по сравнению с традиционной флуоресцентной микроскопией, в том числе, более ясные изображения и контролируемую глубину резкости примерно до 100 мкм.

Результаты иммуноокрашивания можно интерпретировать как долю положительно окрашенных клеток, распределение окраски и интенсивность окраски. Число положительных клеток можно подсчитать в произвольно подобранных микроскопических полях. Однако процент положительных клеток в заданной области не позволяет интерпретировать интенсивность окраски. При увеличении числа эпителиальных клеток, экспрессируемых клеткой, связывается большее количество антител и отсюда усиливается интенсивность окраски. Поэтому иногда можно интерпретировать полуколичественно как долю положительных клеток, так и интенсивность окраски. Процентный показатель положительных клеток может быть умножен на показатель интенсивности, в результате чего будет получен индекс окраски.

Во избежание односторонности и субъективного толкования результатов иммуногистохимии исследователи должны оценивать образцы анонимно и независимо. Компьютерный анализ изображений также уменьшает субъективность и обеспечивает количественную оценку иммуноокрашивания.

Вестерн-блоттинг. Белки в гомогенизированных клетках или тканях разделяются с помощью электрофореза в полиакриламидных гелях с добавлением додецилсульфата натрия (SDS-PAGE) согласно своему молекулярному весу (МВ). Белки затем переносятся на нитроцеллюлозную мембрану или мембрану PrDF, где антигены обнаруживаются иммунохимически посредством специфических антител, как описывалось в методе иммуноцитохимии. Клетки, выращенные на биоматериалах или конструктах тканей *in vitro*, необходимо перед гомогенизацией и выделением белка удалить. Данный метод *не позволяет наблюдать экспрессию антигена*, специфического для клетки, в локальной среде *in situ* (например, остеобласты, возможно, изменяют фенотип на различных поверхностях внутри каркасов тканей). Однако, процесс гомогенизации, используемый при *нозерн-блоттинге*, может выявить антигены, не обнаруженные путем иммуноцитохимии из-за фиксации клеток.

Для того чтобы обеспечить воспроизводимость результатов и сравнить интенсивности белковых полос в различных популяциях клеток или тканей, перед электрофорезом необходимо рассчитать концентрацию белка гомогенизированных клеток ткани. Концентрации белка, как правило, определяются с помощью анализа, основанного на реакции белка с щелочным раствором тартрата меди и реагента Фолина. Для того чтобы оценить МВ белка в полосе блоттинга, используется маркер молекулярного веса, дающий четкие полосы биотинилированного белка в диапазоне молекулярного веса антигена, интересующего исследователя.

Имуноферментный анализ (ELISA). ELISA позволяет дать точную количественную оценку объема антигенов и антител, присутствующих в образце, что особенно полезно при сравнении клеточных реакций на различные биоматериалы или каркасы тканей. Например, воспалительная реакция на различные частицы износа биоматериалов может быть измерена относительным количеством провоспалительных или противовоспалительных цитокинов, продуцируемых клетками *in vitro*, или их уровнем в сыворотках модельных лабораторных животных. Существует *три главных типа ELISA*:

- непрямой анализ, при котором количество антител измеряется в ячейках на планшетах, заполненных антигеном;
- ELISA-сэндвич, где ячейки планшета заполнены антителами, а измеряется количество антигенов;
- конкурентный анализ, в котором концентрация антигена обратно пропорциональна полученной окраске.

Предварительно подготовленные стандарты (часто рекомбинантные белки) и образцы наносят в ячейки с антигенами или антителами, где любое специфическое связывание антитела с антигеном иммобилизовано. После отмывки в ячейки планшета вносят антитела, связанные с ферментом, после чего добавляется раствор субстрата. Интенсивность окраски пропорциональна количеству присутствующего антигена / антитела. Интенсивность цвета измеряется считывающим устройством фотоколориметра. Количественно выражаемые результаты рассчитываются по стандартной кривой, созданной на основе серийного растворения стандартного рекомбинантного белка.

Сортировка флуоресцентно меченых клеток (FACS). Проточная цитометрия или сортировка флуоресцентно меченых клеток (FACS) позволяет выразить количественно процент клеток, реагирующих с конкретными анти-

генами в популяции клеток. Как и аналогичный метод прямой или непрямой иммунофлуоресценции, антигены маркируются флуорохромами. Однако, в отличие от иммунофлуоресценции, одиночные клетки протекают мимо источника возбуждения, при этом антиген-положительные клетки поглощают свет и вновь излучают флуоресценцию, измеряемую детектором. Затем рассчитывается доля антиген-положительных клеток в популяции. При проточной цитометрии клетки должны находиться в суспензии, и поэтому срезы тканей обрабатывают детергентом, а клетки, прикрепленные к биоматериалам, должны быть откреплены. Локализация антигенов как внутри клетки, так и вне клеток и их экспрессия *in situ* поэтому невозможны. Поточная цитометрия также обнаруживает неотражаемый свет и поэтому может измерять число клеток с поглощенными или прилипшими частицами.

Иммуноэлектронная микроскопия. Этот метод позволяет исследователю увидеть клетки, выращенные на светонепроницаемых поверхностях при высокой разрешающей способности. Комплексы антител / антиген могут быть локализованы в конкретной внутриклеточной органелле при помощи меченая антигена / антитела частицами коллоидного золота. После инкубации первичного антитела клетки или ткани подвергаются инкубации с частицами золота, покрытыми белком (диапазон размера от 5 до 20 нм). Частицы золота прикрепляются к молекуле антитела и обнаруживаются под электронным микроскопом. Сканирующий электронный микроскоп также позволяет получить изображения морфологии клеток и прикрепления. Число и длину филоподий (выступов клеток) можно использовать для оценки прикрепления клеток.

Контроль. Для сертификации иммунохимических результатов необходимы контрольные образцы. *Отрицательный контроль* проверяет наличие неспецифической связи, и в этом образце первичные антитела не наносятся или заменяются неиммунным иммуноглобулином того же самого вида. *Положительный контроль* реакции антител на известный антиген, присутствующий в клетках / тканях, подтверждает, что метод окраски функционирует.

Неинвазивные методы. В то время как иммунохимические методы являются крайне специфическими и чувствительными, они носят инвазивный характер и не могут осуществляться на живых клетках *in situ*. Требуются новые неинвазивные методы для анализа поведения живых клеток *in situ* на

светонепроницаемых поверхностях. Это имеет особое значение в каркасах тканей и в имплантатах с посеянными на них клетками, например имплантатами сосудов, где поведение клеток можно наблюдать до имплантации. Спектроскопия комбинационного рассеяния может дать новое решение, в результате которого получается спектральный отпечаток индивидуальных клеток. Исследования в этой области продолжаются.

20.3. Применение иммунохимических методов в науке о биоматериалах и в инжиниринге тканей

Иммунохимические методы используются для определения поведения клеток в многочисленных случаях применения биоматериалов и инжиниринга тканей. Например, адгезия клеток к биоматериалам используется наиболее широко в качестве меры биосовместимости субстрата *in vitro*. Процесс прикрепления клеток к субстрату первоначально включает сывороточные белки, в частности фибронектин, витронектин или фибриноген (присутствующие в среде культуры), прикрепляющиеся к поверхности материала. Затем клетки прилипают к этим прикрепленным белкам с помощью адгезивных белков клеточного матрикса.

Свойства материала могут влиять на клетки прямо или косвенно в зависимости от природы и ориентации адсорбированных белков до прикрепления клеток. Среди важных факторов, определяющих адгезию белка и клеток к материалам, является химический состав и топография поверхности. Например, биологическое функционирование имплантируемых титановых устройств в медицине и стоматологии в огромной мере зависит от микро- (структуры более 1 мкм) и нано- (структуры меньше 1 мкм) топографии. Остеобласты также реагируют по-разному на поры разного диаметра, имеющиеся в каркасах тканей. Физико-химические свойства поверхности тоже играют важную роль во взаимодействии клеток и белков с материалами. Среди них – энергия поверхности, гидрофильность или гидрофобность, поверхностные заряды и реактивные группы на поверхности.

На взаимодействие клеток с поверхностью могут значительно влиять белки матрицы вследствие присутствия гликопротеинов на мембранах клеток, называемых интегринами. *Интегрины* – это рецепторы внеклеточного матрикса, которые имеют селективное сродство (аффинность) с некоторыми белками матрикса и связываются с белками с относительно низкой аффинно-

стью. Низкоафинное связывание, зависимое от присутствия ионов кальция и магния, позволяет клеткам передвигаться по материалам типа Velcro®. Связывание интегринов со структурными белками, например актиновыми и промежуточными филаментами, обеспечивается за счет внеклеточных и межклеточных участков связывания. Молекулы интегринов содержат α - и β -субъединицы. В зависимости от субъединиц в молекуле интегрины связываются со специфическими белками матрикса. Например, клетки, содержащие интегрины с субъединицами α -6 и β -4, связываются с белками матрикса в базальных слоях, например ламининами и промежуточными филаментами, а также кератинами в цитоплазме клеток. Клетки, содержащие интегрины с субъединицами α -5- и β -1-, связываются с фибронектином внеклеточного матрикса.

В табл. 14 приведены примеры иммунохимических маркеров поведения клеток, используемых в исследованиях биоматериалов.

Таблица 14 – Примеры иммунохимических маркеров поведения клеток, используемых в исследованиях биоматериалов

Биологическая реакция	Случаи применения исследований биоматериалов	Специфические иммунохимические маркеры
1	2	3
Воспаление	Считается, что воспалительная реакция на отходы ортопедического износа является главной причиной выхода из строя ортопедического имплантата	Воспалительные цитокины (IL-1, TNF- α). Противовоспалительные цитокины (1-10)
Прикрепление клеток	Часто измеряется для определения биосовместимости субстрата <i>in vitro</i> для различных биоматериалов и каркасов тканей. Материалы могут покрываться белками либо для ускорения, либо для предотвращения прикрепления клеток	Интегрины, например α v/33, витронектин, киназа с фокусной адгезией (ФАК)

Продолжение табл. 14

1	2	3
Гибель клеток (апоптоз или некроз)	Токсическое выщелачивание или другие свойства материалов могут вызвать гибель клеток. Апоптоз (запрограммированная гибель клетки) вызывает биологическую реакцию, резко отличающуюся от биологической реакции некроза	P53, PARP, BAX
Стрессовая реакция клетки	Для анализа здоровья клеток, подвергающихся действию биоматериалов; можно оценивать стрессовую реакцию клетки	Белки теплового шока (HSP) экспрессируются клетками, претерпевающими различные стрессовые влияния окружающей среды
Активация клетки	Биоматериалы могут влиять на клеточный цикл, либо стимулируя, либо тормозя деление клетки. Этап клеточного цикла влияет на фенотипические реакции клетки	Ki-67 экспрессируется делящимися клетками, находящимися не в фазе G0
Формирование кости	Значительное количество исследований сосредоточено на формировании новой кости на различных материалах, влияющих на формирование костных очагов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	Щелочная фосфатаза, остеокальцин, костный морфогенный белок-1 (BMP-1), коллаген
Ангиогенез (формирование кровеносных сосудов)	Ангиогенез является существенным для формирования кости и воспаления, и поэтому он имеет многочисленные случаи применения в биоматериалах и инжиниринге тканей	Проангиогенный фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Ингибиторы ангиогенеза (роста сосудов) эндотелии, ангиостатин

В то время как в настоящей главе основное внимание сосредоточено на исследованиях биоматериалов *in vitro*, иммунохимические методы также часто применяются для понимания взаимодействий между биоматериалами и клетками *in vivo*. Например, часто посредством иммунохимических методов

анализируется ткань ортопедического стыка кость – имплантат для того, чтобы выяснить сложный многофакторный и многоклеточный процесс, связанный с остеоинтеграцией имплантата и отторжением, которое невозможно точно смоделировать *in vitro*.

Иммунохимические методы – это мощный, специфический и чувствительный инструмент для исследования реакции клеток на материалы. Однако при разработке иммунохимического эксперимента и при интерпретации эксперимента следует проявлять осторожность, для того чтобы получить по настоящему репрезентативные и объективные результаты.

21. Применение инжиниринга тканей в клинике

Ранее были изложены понятия, относящиеся к выращиванию тканей и органов вне организма с последующей их имплантацией или использованию клеток для стимуляции восстановления тканей *in vivo* (восстановительная медицина). Также были рассмотрены необходимые для этого материалы и методология. Эта новая область обладает огромным потенциалом для решения проблемы дефицита донорских органов, необходимых для поддержания качества жизни населения. Задача настоящей главы заключается в том, чтобы подвести итоги современного состояния клинического применения конструкций, полученных посредством инжиниринга тканей. Большинство случаев применения продуктов инжиниринга тканей по-прежнему носит экспериментальный характер с ограниченным числом опытов на людях.

Для того чтобы клиническое применение конструкций, полученных посредством инжиниринга тканей, стало частью повседневной жизни, *необходимо преодолеть несколько технологических барьеров*.

Источник клеток. Ранее было дано описание имеющихся вариантов клеток, используемых в конструктах, получаемых посредством инжиниринга тканей, включая стволовые клетки. В настоящее время *единственным надежным источником клеток являются аутогенные клетки*, получаемые от пациента. Этот источник имеет серьезные ограничения с точки зрения имеющегося количества клеток и способности клеток сохранять фенотип, продуцирующий внеклеточные белки. Иммуортализованные (бессмертные) линии клеток способны размножаться, но обычно не обладают дифференцировкой, необходимой для стабильного восстановления структуры тканей.

Стабильные трехмерные конструкты. Все ткани и органы имеют сложную взаимозависимость типов клеток от трехмерной архитектуры с промежуточными соединениями. Большинство конструктов, полученных посредством инжиниринга тканей, включают только один или самое большее два типа клеток, выращенных главным образом в двухмерной конфигурации. Эта особенность структуры ограничивает клиническую эффективность конструктов.

Сосудистая сеть. Все ткани и органы имеют взаимопроникающую сеть кровеносных сосудов, связанных с сердечно-сосудистой системой, которая обеспечивает питание и удаляет продукты жизнедеятельности. У современных конструктов, полученных посредством инжиниринга тканей, эта жизненно важная сеть в момент трансплантации отсутствует. Ткани организма-хозяина быстро проникают в трансплантат со своей системой кровоснабжения, иначе клетки погибнут. Одной из крупных проблем, стоящей перед инжинирингом тканей, является быстрое достижение ангиогенеза (роста сосудов) после имплантации.

Межповерхностная стабильность. Ограничения конструктов, полученных посредством инжиниринга тканей, перечисленные выше, часто создают сложности на стыке ткани организма-хозяина и имплантата. Усадка, проникновение новой ткани или распад ведут к нежелательным клиническим последствиям.

Стерилизация. Поддержание стерильности конструкта, полученного посредством инжиниринга тканей, в котором содержатся живые клетки, – это серьезная проблема для производства, обращения, хранения и транспортировки. Большинство способов, используемых для стерилизации неживых трансплантатов и устройств, в частности γ -излучение, обработка в автоклаве, этиленоксидом и ультрафиолетовое облучение, приведет к гибели клеток. Стерильность должна достигаться при обработке и поддерживаться до тех пор, пока не будет завершена имплантация.

Стоимость. Долгосрочная перспектива выживаемости конструктов, полученных посредством инжиниринга тканей, неопределенна. Следовательно, во многих случаях их применение ограничивается сферами, где никакой другой методики нет, как это требуют этические соображения. Эти сценарии «худшего варианта» затрудняют оценку эффективности и успешности новых методов.

Нормативные соображения. Продукты, полученные посредством инжиниринга тканей, подпадают под нормативное регулирование, являясь неживыми биоматериалами и устройствами. В настоящее время выпущено всего лишь несколько изделий, отвечающих данным законодательным требованиям. Затраты, а также факторы риска / выгоды предугадать нелегко из-за неопределенности вопроса получения нормативного разрешения.

21.1. Кожа

Многим пациентам требуется запас кожи для лечения сильных ожогов, потери кожного покрова в авариях, хронических язв, в особенности на ногах и ступнях, а также для восстановления участков после удаления опухоли. Клиническим «золотым стандартом» является использование собственной кожи пациента в виде аутогенного трансплантата на часть толщины кожи. Преимуществом является отсутствие иммунного отторжения, а недостатком – ограниченность предложения и наличия нормальной кожи, болезненность участка аутогенного трансплантата и окончательный косметический исход. Получаемые путем инжиниринга тканей кожные суррогаты дают долгожданное решение этих проблем. *Задача* заключается в том, чтобы *произвести «готовый к применению» кожный суррогат, функционирующий так же хорошо, как и собственная кожа пациента.*

Integra® – это кожный суррогатный материал, используемый для лечения кожных ран в течение более десяти лет. Он состоит из мембраны, полученной из коровьего коллагена, и хондроитин-6-сульфата с межмолекулярными связями, покрытого съёмным слоем полисилоксана. Этот кожный суррогат помещается на санированный участок раны, и после ранних стадий заживления раны и прорастания сосудов наносится поверхностный эпидермальный слой либо в виде аутогенного трансплантата на часть кожи, либо из лоскутов в виде культивированных кератиноцитных. Результаты, как правило, являются благоприятными для пациентов, пострадавших от ожогов, в иных обстоятельствах имеющих плохой прогноз.

Среди других клинически важных изделий, получаемых инжинирингом тканей и используемых в качестве суррогатов кожи, можно упомянуть Alloderm®, Apligraf®, Dermograft®, Transcyte® и Laserskin®.

21.2. Хрящ

Суставной хрящ не имеет кровоснабжения, поэтому у него почти нет способности к самовосстановлению. Регенерация дефектных хрящей, поврежденных артритом или травмой, основанная на инжиниринге тканей, может принести пользу ориентировочно 1 млн пациентов в год. Исследования, проводимые на животных в течение 30 лет, свидетельствуют, что трансплантация изолированных хондроцитов может усиливать регенерацию суставов.

С клинической точки зрения *имеются три варианта, основанные на инжиниринге тканей*, после забора хондроцитов у пациента: 1) увеличить численность клеток до миллионов на см² *in vitro* и впоследствии ввести их в поврежденный участок; 2) вырастить растущую популяцию клеток на пористых рассасывающихся волоконистых каркасах, в частности на комбинированном PLA / PGA, с соотношением 85 : 15 с последующей имплантацией в пораженную зону; 3) сделать забор хондроцитов в виде маленьких пробок и трансплантировать их на место дефекта, создав «мозаичную пластику».

Долгосрочная выживаемость – эта общая проблема для всех трех подходов из-за трудности, с которой хондроциты поддерживают дифференцированный фенотип в культуре. Сложная трехмерная архитектура суставного хряща и внеклеточный матрикс, необходимый для соответствующей передачи нагрузок клеткам, создаются редко. Кроме того, распространенной проблемой является стабильность между поверхностями хряща организма-хозяина и конструктом, полученным посредством инжиниринга тканей. В настоящее время относительно небольшому числу пациентов было произведено восстановление хряща на основе инжиниринга тканей.

21.3. Сухожилия, связки и кость

В литературе, посвященной реконструкции кости и хрящей, написанных первопроходцами в области инжиниринга тканей С. Ваканти и Дж. Ваканти, а также в книгах, написанных Гулетом, Р. Ланза, Р. Лангером, о реконструкции сухожилий и связок, дается описание достижений, которых удалось добиться в области применения инжиниринга тканей для замены этих жизненно важных компонентов скелетно-мышечной системы. В целом, для достижения ультраструктурных характеристик клетки и внеклеточного

матрикса естественных тканей еще требуется провести большой объем исследований. Слабые механические свойства конструкторов, полученных посредством инжиниринга тканей, являются частично следствием трудностей применения соответствующих механических и химических стимулов к клеткам при их размножении *in vitro* в каркасах, полученных посредством инжиниринга тканей. Нынешние исследования использования биореакторов, применяющих такие управляемые стимулы, может разрешить эту проблему. Между тем можно сказать, что немногие случаи применения на сегодняшний день имели долгосрочный успех.

21.4. Поджелудочная железа (островки Лангерганса)

Более 100 млн человек в мире страдают в различной степени сахарным диабетом. Ежедневные инъекции инсулина широко используются для лечения этого заболевания, но болезненность осложнений, связанных с ним, включая патологию больших кровеносных сосудов и нейропатию вегетативной, периферической и центральной нервной системы, постоянно возрастает. Слепота, ампутация и почечная недостаточность на последней стадии – это зачастую долгосрочные последствия диабета. Таким образом, имеется стимул для того, чтобы инжиниринг тканей предоставил решение проблемы производства инсулина *in vivo*, когда поджелудочная железа не способна это делать сама. За последние 30 лет было изучено несколько подходов к проблеме создания «искусственной поджелудочной железы». Немногие из них уже имеют клиническое значение. *Один из наиболее перспективных методов заключается в заборе и выращивании клеток панкреатических островков Лангерганса in vitro, инкапсуляции или иммобилизации клеток с помощью полимерных каркасов и трансплантации конструкторов, полученных посредством инжиниринга тканей.* В литературе дается описание *трех основных изученных типов систем инкапсуляции.* Исследования, проведенные на животных, показывают, что эти полученные посредством инжиниринга тканей системы могут функционировать в течение нескольких месяцев до одного года и более. Данные также свидетельствуют, что основной преградой является поддержание функции островков в течение продолжительных периодов времени.

21.5. Печень

Более чем миллиону людей во всем мире требуется госпитализация по поводу заболеваний печени; более 25 тыс. пациентов умирают ежегодно в США от хронического заболевания печени. Ограниченный источник поставки донорской печени делает ее трансплантацию решением проблемы только для нескольких тысяч пациентов. Решение, основанное на инжиниринге тканей, является возможным, поскольку печень имеет большой потенциал для самовосстановления. Таким образом, долгосрочное использование устройства «стимуляции печени», предоставляющее время для регенерации нормальной печеночной ткани, может быть высокоэффективным и спасти тысячи жизней ежегодно.

В настоящее время исследуется два подхода: 1) трансплантация гепатоцитов путем прямой инъекции; 2) выращивание гепатоцитов на рассасывающихся полимерных каркасах, в частности PLA / PGA, с поверхностной модификацией или использование бусин из альгината для создания конструктора, полученного посредством инжиниринга тканей, который может быть либо трансплантирован, либо использован для удаления продуктов обмена веществ путем отвода части крови и пропускания ее через устройство.

Так же как и в случае большинства подходов к инжинирингу органов, основанных на инжиниринге тканей, основополагающей проблемой является поддержание сложных, многочисленных биологических функций гепатоцитов, связанных с предоставлением достаточного времени для того, чтобы дать печени возможность регенерировать. Клиническое применение печени, полученной посредством инжиниринга тканей, вероятно, состоится через 5–10 лет. Как считают многие ученые, в настоящее время степень приживления, размножение и продолжительность выживания гепатоцитов остаются неопределенными.

21.6. Почка

Выше была описана замена фильтрационной функции почки гемодиализом или хроническим амбулаторным перитонеальным диализом. Хотя это является одним из самых успешных использований искусственного органа, данное решение ограничивается функцией фильтрации. Диализ не заменяет сложную комбинацию регуляторных, метаболических, эндокринных или го-

меостатических функций почки. Следовательно, пациенты, пользующиеся диализом, по-прежнему испытывают значительные осложнения со здоровьем. *Биогибридная почка, полученная посредством инжиниринга тканей*, помогла бы исключить эти осложнения.

Для замены выделительной функции почек необходимы два главных устройства: 1) клубочек, который обеспечивает фильтрацию; 2) канальцы-реадсорберы. Уже достигнут определенный прогресс в разработке биоискусственного клубочка, биоискусственных канальцев и биоискусственной эндокринной железы, выступающей в роли генератора эритропоэтина. Функционирующие канальцы, вероятно, потребуют использования стволовых клеток. Прогнозируется, что экономическая выгода от успеха будет огромной, свыше 10 млрд долларов в год. Препятствия для достижения этого успеха те же, что описаны выше: способность добиться и сохранить трехмерную архитектуру высококодифференцированных клеток на продолжительный период времени.

21.7. Сердечно-сосудистая система

Уже говорилось о высокой смертности, вызываемой заболеваниями сердечно-сосудистой системы, и об использовании различных устройств для продления жизни. Например, замена сердечных клапанов (либо механические протезы, либо клапаны из ткани) позволяет спасти жизни более 100 тыс. человек в год. Имеющиеся в продаже клапаны из ткани включают ксенотрансплантаты (свиные и коровьи, имеющие межмолекулярные связи с глутаровым альдегидом) и аутоотрансплантаты. Недостаток всех клапанов из ткани заключается в ограниченности срока службы (10–15 лет). *Использование аутогенной ткани*, в частности, перикарда, для восстановления клапанов или их замены – это шаг в направлении решения проблемы инжиниринга тканей.

Успех в направлении выращивания клапанов сердца *in vitro* при помощи технологии стволовых клеток был бы значительным прорывом в лечении заболеваний клапанов сердца.

Замена сосудов или шунтирование используется для продления жизни сотен тысяч пациентов в год. Как говорилось выше, могут использоваться

только большие или средние по размеру артерии из-за ограничений функции трансплантата из современных материалов для имплантатов. Усилия по выращиванию мелких кровеносных сосудов *in vitro* обнадеживают благодаря использованию факторов роста фибробластов (FGF), чтобы принудить капиллярные эндотелиальные клетки вторгаться в трехмерный коллаген или фибриновый матрикс и формировать канальцы, имеющие аналогичную структуру с кровеносными сосудами. Контроль над микросредой клеток, способствующий естественному ангиогенезу, обнадеживает. В ближайшем будущем станет возможным производить конструкты, получаемые посредством инжиниринга тканей, подходящие для сосудистых трансплантатов.

21.8. Нервы

Периферическая нервная система имеет потенциал для регенерации после травмы, но клинический успех носит переменный характер. Были испытаны методы плавления, в частности такие, как использование фибринового клея или полиэтиленгликоля (PEG), но наиболее перспективным подходом является использование нервных проводящих каналов. Модификация поверхности различных полимерных систем усиливает миграцию и, что важно, соединяет нервы, растущие вдоль каналов. *Использование биоматериалов третьего поколения, обеспечивающих регулируемый выход нейротропных факторов и специфически влияющих на рост нервов, выживание нейронов, по всей видимости, является ключом к нахождению решения, основанного на инжиниринге тканей.*

Инжиниринг тканей является обнадеживающим на уровне базовых исследований. Многочисленные ограничения, связанные с получением и содержанием больших трехмерных конструктов дифференцированных клеток, мешают их клиническому применению. Методы регенерации кожи и хряща на основе принципов инжиниринга тканей доступны для клиники, хотя проблемы долгосрочной стабильности по-прежнему существуют. Ограниченные клинические опыты в других сферах применения только начинаются.

Контрольные вопросы

1. В чем состоит основная цель и проблема инжиниринга тканей?
2. Назовите источники клеток, используемые при инжиниринге тканей.
3. Дайте сравнительную характеристику клеток ES и «взрослых» клеток.
4. Какие существуют классы биосовместимых материалов?
5. Назовите основные критерии идеальных каркасов.
6. Перечислите методы, используемые для производства пористых сетей в полимерах, и кратко охарактеризуйте их.
7. Перечислите способы получения биоактивных керамических каркасов и дайте их краткое описание.
8. Перечислите методы получения каркасов из биоактивного стекла и дайте их краткое описание.
9. Какими способами возможно быстрое создание прототипов биокерамики?
10. Какие типы культуры клеток существуют для производства биоматериалов и инжиниринга тканей?
11. Какие асептические приемы следует выполнять при культивировании клеток?
12. Перечислите преимущества и недостатки обычных способов стерилизации.
13. Перечислите основные протоколы ведения клеточных культур.
14. Охарактеризуйте основные методы оценки жизнеспособности клеток.
15. Какие иммунохимические методы являются прямыми, а какие непрямими?
16. Назовите преимущества и недостатки методов иммуноцитохимии в исследованиях биоматериалов и в инжиниринге тканей.
17. Приведите примеры иммунохимических маркеров поведения клеток, используемых в исследованиях биоматериалов.
18. Какие существуют основные технологические барьеры в применении конструкций, полученных посредством инжиниринга тканей?
19. Перечислите и кратко охарактеризуйте случаи применения инжиниринга тканей в клинике.

Часть V. СОЦИАЛЬНЫЕ, ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫЕ И ЭТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

22. Нормативная классификация биоматериалов и медицинских устройств

Классификация медицинских устройств для законодательных целей основывается на рисках, присущих устройству. Каждому классу придаются различные законодательные контрольные механизмы. Например, в США существует трехъярусная система. Устройства класса I представляют минимальный риск для пациента. Устройства класса II требуют более жесткого рассмотрения и контроля для получения на них законодательного разрешения. Устройства класса III предусматривают самые жесткие виды контроля и требования отчетности об их производстве. В США существует два основных пути к получению законодательного статуса: получение разрешения после того, как будет продемонстрировано, что устройство, предлагаемое к выводу на рынок, в значительной степени эквивалентно устройству, выведенному на рынок до принятия Поправки о медицинских устройствах 1976 г. (известное как разрешение 510(к)), или получение предпродажного разрешения, которое предполагает подачу и рассмотрение подробных данных, касающихся устройства, для подтверждения безопасности и работоспособности (21 CFR 822.16).

В Европе существует четырехуровневая система, основанная на степени риска, связанного с использованием устройства, времени, в течение которого устройство находится в контакте с организмом человека, и степени инвазивности устройства (Директива ЕС 93/42 «Медицинское устройство»). Медицинские устройства являются частью гармонизированной системы законодательства о качестве и безопасности всех изделий, продаваемых в Европе. Изделия, соответствующие этим правилам, имеют марку CE. Европейская комиссия выпускает директивы для координации системы во всем Европейском Союзе (ЕС). Именно эти директивы, относящиеся к медицинским устройствам, содержат классификацию и другие существенные требования, которые должны соблюдать производители и государства – члены ЕС. Они, в сущности, определяют требования по качеству и безопасности медицинских

устройств. Директивы также определяют технологические процессы, которые необходимо выполнять тем, кто связан с производством, продажей, использованием и регулированием, касающимся медицинских устройств.

Медицинское устройство – это прибор, аппарат, средство, машина, агрегат, имплантат, реактив *in vitro* или другой аналогичный или подобный предмет, включая любой компонент или часть, который связан:

- ✓ с диагностикой, уходом за больными, лечением или профилактикой заболевания или состояния;
- ✓ со структурой или функцией организма;
- ✓ с невозможностью достичь предполагаемую цель использования посредством химических препаратов;
- ✓ с независимостью от усвоения системой обмена веществ.

Вышеуказанное определение было принято как ЕС, так и Администрацией по продуктам питания и препаратам (FDA) в США. *Важно подчеркнуть, что медицинское устройство не достигает предполагаемой цели применения посредством химического действия и не зависит от усвоения системой обмена веществ.* Эти характеристики относятся к препаратам и фармацевтическим продуктам, и именно это отличает препараты и фармацевтические реактивы от медицинских устройств.

22.1. Законодательное регулирование медицинских устройств

Существует несколько уровней законодательного регулирования различных медицинских устройств. В США в соответствии с Актом Конгресса это Администрация по продуктам питания и препаратам (FDA) (орган, регулирующий и контролирующий продажу и сбыт медицинских устройств). В Великобритании это Агентство по медицинским устройствам. В Японии это Министерство здравоохранения и социального обеспечения. Большинство стран мира имеют какую-либо форму агентства по контролю за продажей и сбытом медицинских устройств. Кроме того, ЕС создал через систему Договоров структуру контроля и законодательного регулирования медицинских устройств, включающую соответствие, маркетинг, марку CE.

22.2. Классификация медицинских устройств

Определение медицинских устройств охватывает огромное количество изделий, начиная от реактивов, применяемые *in vitro* для диагностики и простыми приспособлениями, в частности временными кожными повязками, и заканчивая очень сложными устройствами жизнеобеспечения, такими как кардиостимуляторы и клапаны сердца. Поэтому была создана система классификации медицинских устройств для того чтобы различать риски, связанные с этими устройствами.

FDA классифицирует медицинские устройства по риску для пациента, связанному с использованием этого устройства:

➤ устройства класса I – это устройства с низким уровнем риска, которые подвергают пациента незначительной опасности (например, реактивы, применяемые *in vitro* для анализов в целях диагностики болезней или некоторых типов состояний или неинвазивные изделия типа повязок);

➤ устройства класса II – это устройства среднего уровня риска и включающие как неинвазивные, так и инвазивные устройства (например, краткосрочные устройства типа катетеров, устанавливаемых всего лишь на короткое время; некоторые электронные устройства, используемые для тестирования или анализа здоровья пациента; оборудование для электрокардиограммы и рентгена, устройства фиксации перелома);

➤ устройства класса III – это устройства с высокой степенью риска, имплантируемые на продолжительный срок.

В ЕС устройства класса II(a), как правило, очень похожи на устройства класса II в соответствии с классификацией FDA в США. Однако ЕС создал класс II(b), в который входят имплантируемые устройства, включающие рассасывающиеся материалы и другие типы долгосрочных имплантатов. Устройства класса III представляют собой долгосрочные имплантируемые устройства, которые либо считаются жизнеобеспечивающими, либо в случае выхода из строя приведут к серьезной опасности для здоровья и благополучия пациента. К устройствам класса III относятся кардиологические устройства стимуляции и клапаны сердца, устройства полной замены бедра и колена, материалы костных трансплантатов.

22.3. История агентств законодательного регулирования

FDA США было создано Актом Конгресса Соединенных Штатов в 1906 г. в результате принятия Акта о продуктах питания и препаратах. Основная цель этого законопроекта состояла в том, чтобы запретить то, что в тот период было широко распространено, а именно подделку маркировки и фальсификацию продуктов питания, напитков и препаратов. Законопроект главным образом относился к фальсификации продуктов питания и напитков и в меньшей степени к подделке маркировки препаратов. В самом начале его задача состояла в том, чтобы предоставить потребителю защиту в этих областях. В течение ряда лет Конгресс США постоянно пересматривал и уточнял рамки действия и контроля за деятельностью FDA.

В 1938 г. Конгресс принял «Акт о продуктах питания, препаратах и косметике», который определил и зафиксировал директивы того, что обязаны были делать производители косметики, лекарств для предотвращения фальсификации своей продукции. Акт 1938 г. определил роль FDA как надзирающего органа, разрешающего продажу и сбыт препаратов и косметики и имеющего полномочия преследовать компании, нарушающие закон.

В 1976 г. были приняты важные законы, известные как Поправки, касающиеся медицинских устройств. Это позволило выработать в США четкие определения того, что представляют собой медицинские устройства, установить классификацию, способы, с помощью которых производители медицинских устройств должны выводить свои изделия на рынок; создало порядок рассмотрения тех изделий, которые уже продавались на рынке, в целях обеспечения производства устройств как безопасных, так и эффективных для использования. Именно эта поправка 1976 г. послужила основой большей части норм, существующих в настоящее время в промышленности медицинских устройств. Несомненно, этот законопроект, принятый Конгрессом, стал важной исторической вехой.

В 1990 г. Конгресс пошел дальше в этом направлении и ввел в действие «Акт о безопасности медицинских устройств». Это произошло после анализа 14-летнего опыта работы с момента принятия «Акта о медицинских устройствах» в 1976 г. «Акт о безопасности медицинских устройств» расширил контроль, осуществляемый FDA, позволив этому ведомству требовать от компаний представления данных о работоспособности приборов, с тем, чтобы FDA могла лучше оценить их эксплуатационные характеристики. Это

создавало большую нагрузку для производителей, которые должны были следить за тем, чтобы их медицинские устройства работали так, как было задумано, т.е. безопасно и эффективно. Также требовалось, чтобы производители медицинских устройств могли отслеживать работу своих устройств после их выпуска с завода. Производители устройств высокого уровня риска класса III в настоящее время обязаны отслеживать устройство от начала производства до имплантирования. Таким образом, если что-то произойдет с устройством после имплантации, можно будет найти пациента с целью замены устройства. Эта поправка к законодательству о медицинских устройствах переклассифицировала многие устройства, которые раньше были устройствами класса III, в устройства класса II.

В 1997 г. в результате принятия ЕС Директив о медицинских устройствах и с признанием того, что два крупнейших рынка медицинских устройств работают при двух различных системах, Конгресс принял в 1997 г. «Акт о Модернизации FDA». Основной упор в этом Акте делался на том, чтобы нормы и правила FDA перевести на рельсы глобальной гармонизации с другими странами, для того чтобы правила, касающиеся медицинских устройств, были стандартизированы во всем мире. Также были внесены изменения, позволяющие сделать действующие правила FDA более ясными для производителей медицинских устройств. С появлением этого Акта производители знают более точно требования, необходимые для получения разрешения FDA на продажу устройства. Была также внесена ясность относительно одного из основных путей получения разрешения на медицинские устройства, т.е. предпродажное уведомление 510(k). Обозначение «510(k)» относится к конкретному параграфу в первоначальном законе о медицинских устройствах 1976 г. Этот раздел является самым широко используемым способом получения разрешения FDA на продажу медицинского устройства в США.

С созданием ЕС в 1980-х гг. были предприняты меры по выработке единых правил в 15 странах – членах ЕС (в настоящее время 25 стран), с тем, чтобы медицинские устройства могли продаваться и распространяться по одному набору правил. Важной вехой стало законодательство и соглашение, оформленные в виде «Директивы 93/42 ЕС о медицинских устройствах», которая предусматривала соответствие этих устройств требованиям или маркировке CE медицинских устройств. Данной гармонизацией норм об устройствах в ЕС начался процесс «глобальной гармонизации» нормативной базы,

касающейся медицинских устройств, продолжающейся в индустриально развитых странах и по сегодняшний день.

«Директива ЕС о медицинских устройствах» создала механизм, определивший уведомляемые органы, т.е. организации, отвечающие за выдачу марки соответствия, марки CE производителям медицинских устройств. В этой Директиве было установлено, что производители должны выполнять правила системы качества ISO 9001 и требования систем качества ISO DIS 13485 для медицинских устройств.

22.4. Марка CE

Марка CE – это маркировка соответствия ЕС, обеспечивающая соответствие изделия определенным основным требованиям. Большинство медицинских устройств, продаваемых на рынке стран ЕС, имеют марку CE, хотя устройствам класса I необязательно иметь эту маркировку.

Существенными требованиями для получения марки CE, как это записано в «Директиве 93/42 ЕС о медицинских устройствах», являются 40 пунктов, содержащиеся в этой Директиве и охватывающие все известные источники опасности для пациента. Цель установления требований в разработке данных Директив состояла в том, чтобы учесть все области, в которых компания могла бы сделать что-то или не выполнить определенные задачи, в результате чего может возникнуть риск для пациента. Это был анализ оценки риска, на основе которого были выработаны эти 40 пунктов.

Данные 40 существенных требований можно подразделить на шесть основных категорий и выделить **шесть основных требований для получения марки CE**:

1) *внутренний контроль технологии производства*, т.е. те элементы, в области которых компания может выполнить определенные задачи, обеспечивающие ей контроль над производством своей продукции;

2) *проверка соответствия типа*; существенные элементы указывают тип контроля, который может осуществлять уведомляемый орган, и который направлен на обеспечение производства и конструирования компанией медицинских устройств, отвечающих требованиям;

3) *проверка соответствия нормам ЕС*; устанавливается то, как можно определить, что устройство соответствует своему предполагаемому применению и потребностям;

4) *обеспечение качества производства*; излагаются директивы, требующие соблюдения, по системам обеспечения качества производства;

5) *проверка изделия*; указывается, как следует проверять изделие, чтобы оно выполняло предусмотренные для него функции;

6) *обеспечение полного качества*; приводятся директивы, касающиеся того, как компания должна реализовывать систему качества, охватывающую всю структуру компании.

22.5. Отличия правил FDA и правил ЕС

Основной ролью FDA в области регулирования медицинских устройств, как это установлено Конгрессом США, является защита здоровья граждан. Все, что лежит за этими пределами, является вторичным по отношению к миссии FDA. В системе регулирования ЕС упор делается на значении стандартизированного «внутреннего рынка», а также на защите здоровья граждан. Другое отличие между системами в США и ЕС заключается в том, что FDA индивидуально рассматривает каждое устройство, которое представляется ему, и определяет, может ли это устройство быть выпущено на рынок. Пока компания каким-то образом она не уведомит FDA, она не имеет права выпускать устройство на рынок США. FDA должна утвердить устройство (для устройств классов II и III), прежде чем компании будет разрешено его продавать. В отличие от этого, в системе ЕС компания подает свои данные и информацию уведомляемому органу, являющемуся частной организацией, лицензированной через ЕС (уведомляемый орган получает полномочия давать разрешение на продажу медицинских устройств). Этот уведомляемый орган затем имеет возможность предоставлять или выдавать марку соответствия – марку CE, и компании разрешается выпускать свое медицинское устройство на рынок. В соответствии с этой схемой правительства отдельных стран не рассматривают решение уведомляемого органа.

Различия между правилами, касающиеся медицинских устройств, в ЕС и США:

○ FDA индивидуально рассматривает каждое устройство, представленное ему, и определяет его возможность быть проданным;

● ни одно правительство в ЕС не рассматривает решения уведомляемого органа о предоставлении марки CE;

○ FDA основывается в значительной степени на федеральных правилах и положениях;

• ЕС основывается на добровольных стандартах для обеспечения безопасности и эффективности устройств;

○ FDA США в значительной степени полагается на Конгресс США и на федеральные правила и положения, рассматривая их в качестве руководства и органа, определяющего политику в этой области, для того чтобы решить, как ей действовать в вопросе о допуске или недопуске медицинских устройств на рынок;

• ЕС в значительной степени полагается на добровольные стандарты, основанные на консенсусе, в частности такие, как три директивы по медицинским устройствам и добровольные стандарты ISO, в целях обеспечения безопасности и эффективности медицинских устройств.

Эти отличия сразу же бросаются в глаза, когда речь заходит о выводе нового устройства на рынок.

В ЕС «компетентным органом» является агентство в данной конкретной стране, отвечающее за контроль медицинских устройств.

Например, в Великобритании компетентным органом является Агентство по медицинским устройствам. Компании, разрабатывающей медицинское устройство, в частности биокерамический материал костного трансплантата, необходима только марка CE, которую она получает у уведомляемого органа внутри ЕС, для того чтобы продавать устройство. Однако Агентство по медицинским устройствам в Великобритании или компетентный орган в любой другой стране имеет право и поручение осуществлять надзор и следить за тем, чтобы устройства работали так, как указывается в их паспорте. Поэтому компетентный орган может помешать продаже устройства, если возникает какая-либо проблема. Он может принять другие необходимые меры против производителей медицинских устройств для обеспечения продажи и поддержания устройств в рамках системы маркировки соответствия требованиям ЕС.

23. Передача технологии

Увеличивающаяся продолжительность жизни пациентов делает более актуальной разработку новых материалов, усовершенствование конструкции устройств и создание новых терапий восстановления, улучшающих показатели выживаемости устройств. Все новые изделия и виды терапии должны быть проверены на безопасность прежде, чем их можно будет использовать в клинике. Выше давалось описание процесса регулирования, необходимого для обеспечения безопасности изделия. В данной главе описаны этапы, которые необходимо выполнить для получения законодательного разрешения и, в конечном счете, прибыльного изделия. Этот процесс называется *передачей технологии*.

Важно отметить, что передача технологии включает серию направлений. Каждое направление обеспечивается своим персоналом с соответствующим набором навыков, дает разный конечный результат и должно иметь отдельный бюджет. Эффективная разработка нового изделия для здравоохранения требует выполнения всех направлений. Прибыльность часто зависит от времени и затрат, вложенных в каждое направление. Временные и финансовые затраты, связанные с направлениями, суммируются и должны точно прогнозироваться и выполняться, если нужно, чтобы процесс передачи был успешным.

23.1. Направления передачи технологии

В табл. 15 в обобщенном виде представлены пять направлений, необходимых для успешной передачи технологии.

Таблица 15 – Направления передачи технологии

№ п/п	Направление	Конечный результат
I	Исследования	Докторская степень и публикации
II	Патентная защита	Патенты выданы
III	Оценка рынка	Потенциальная прибыль и риск
IV	Демонстрация технологии	Прототипы, контроль качества, возможен незначительный доход
V	Производство	Прибыли

Подробности шагов каждого направления представлены на рис. 50. Каждое направление передачи технологии имеет временную ось, регулирующую последовательность шагов. Конечный результат каждого направления обобщен в табл. 15.

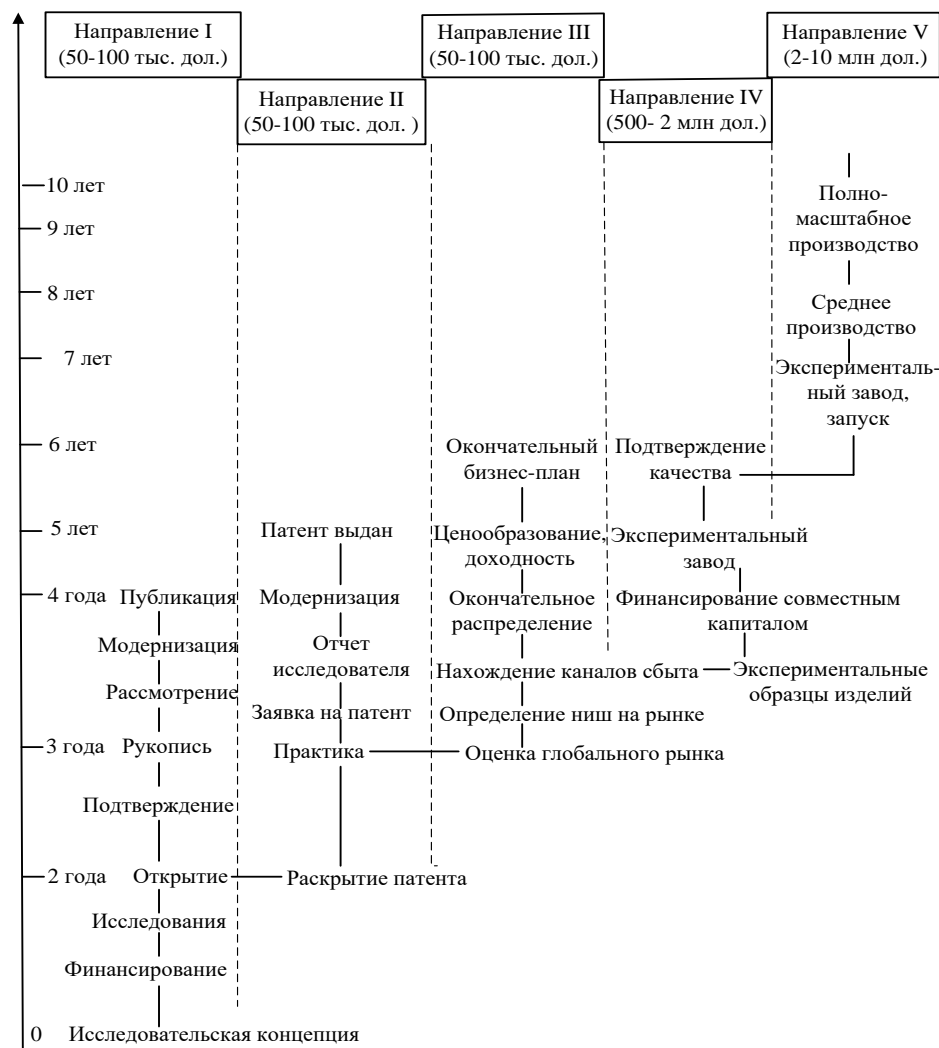


Рисунок 50 – Направления передачи технологии нового биоматериала

Исследовательское направление (Направление I) часто бывает гораздо продолжительнее, чем то, которое показано на рис. 50, вследствие необходимости проведения испытаний новых материалов на клеточной основе и опытов над животными.

Указанная временная ось – это минимум, так же как и прогнозируемые затраты на исследования. Таким же образом временная ось на защиту патентов может быть значительно длиннее, чем показано на рис. 50, если изобретение делается в такой области, в которой много изделий уже находится на рынке (характерно для области биоматериалов). Необходимо следовать всем пяти направлениям, для того чтобы замысел исследователя стал клиническим изделием, которое может производиться и продаваться на рынке с разумным доходом от инвестиций.

Хотя по этапам, указанным на рис. 50, приведены конкретные временные сроки, в реальности распределение времени по каждому этапу будет уникальным для данной технологии, изделия и организации.

Временные сроки, указанные на рис. 50, стремятся в направлении короткого края распределения и поэтому могут использоваться в качестве оптимальной меры эффективности передачи технологии. Если временные приращения больше, чем те, которые указаны на рис. 50, существует вероятность того, что в организации существует проблема, и процесс передачи технологии будет задерживаться.

На практике временные сроки каждого из пяти направлений являются почти оптимальными. Очень редко можно сократить продолжительность, которая необходима для осуществления таких этапов, как проведение исследований, патентной защиты, оценки рынка или демонстрации нового изделия. Улучшения ранее существовавших методов обработки и производства изделий занимают, возможно, на треть меньше времени на фазе демонстрации технологии, поскольку мощности экспериментального завода уже существуют. Временные оси исследований и разработок, а также патентной защиты являются почти инвариантными, независимо от уровня проводимой инновации. Редко удастся сократить путь и пропустить какие-либо из отдельных шагов, указанных в табл. 15, не получив впоследствии дорогостоящие задержки и отставание от сроков.

23.2. Эффективная передача технологии

На рис. 50 показана передача технологии в виде *пяти параллельных направлений* – это является оптимальным в отличие от последовательного выполнения. Для последнего имеется несколько причин: короче суммарное время; обратная связь (обмен информацией) между направлениями; сохранение ускорения; ниже общие затраты.

Если есть возможность следовать параллельно пяти направлениям передачи технологии, суммарное время, необходимое для успешного процесса передачи технологии, равно восьми годам. Однако, если необходимо выполнить каждое направление до того, как начинать следующее, суммарное время почти удваивается и доходит до 14 лет. Часто это происходит потому, что затраты, связанные с патентной защитой и демонстрацией технологии, обычно значительно больше затрат на исследования. При переходе от направления к направлению в процесс принятия решений вовлекаются новые уровни управления. Количество лиц, принимающих решения, увеличивается. Вероятность получить утверждение снижается пропорционально. Сочетание факторов часто приводит к излишне продолжительному последовательному процессу передачи технологии. *Основным препятствием в последовательном процессе является переход от направления III к направлению IV.* В этой точке уровень финансовых обязательств возрастает на коэффициент 10. Однако затраты – это не единственный барьер, препятствующий данному переходу. Дополнительный персонал, управление и мощности так же в равной степени являются существенными факторами.

Для того чтобы продемонстрировать, что технология имеет производственный потенциал (Направление IV), важно создать команду из ученых, стоявших у истоков открытия, инженеров, способных освоить технологию и опытных в конструировании необходимого оборудования, технического персонала, администрации финансовым планированием и ресурсами. Опыт, мастерство и навыки, обязанности и темпераменты сильно отличаются у разных членов этой команды. Следовательно, потребуется много времени для того, чтобы выработать удобный график, план действий, бюджет до того как можно будет задействовать Направление IV.

Технология может не заработать на демонстрации Направления IV без серии испытаний. Обратная связь и обмен информацией между командой по демонстрации технологии и исследовательской командой являются крайне

важными. Часто творческий научный персонал может сосредоточить свое внимание на других интересах и не будет испытывать энтузиазма по поводу возвращения на «старый» проект после возникновения проблем. Необходимо нанимать и обучать новый персонал. Результатом этого процесса станет удлинение Направления IV. Эти трудности могут возникнуть независимо от того, происходит ли передача технологии в университете или в компании или в рамках «чисто коммерческого» лицензионного соглашения между университетом и большой корпорацией.

Как правило, средства направленные на реализацию проекта демонстрации технологии, будут утверждены и выделены без завершения маркетинга и бизнес-исследования (Направление III). В маркетинге и бизнес-анализе будет предпринята попытка спрогнозировать соотношение затрат / доходов, необходимого капитала, размера рынка, времени выхода на рынок, процент проникновения на рынок (доля рынка), конкурентоспособность новой технологии, время выполнения заказа по сравнению с конкурентами, маржинальный доход, воздействие на существующие корпоративные изделия и т.д. Университетская наука и инженерные факультеты не имеют персонала и опыта для проведения такого анализа. Как правило, необходимо заключить лицензионное соглашение, для того чтобы перейти от Направления II к Направлению III. Зачастую происходят задержки, поэтому средства редко выделяются для запуска Направления III до тех пор, пока не будут выданы патенты (конечная точка Направления II) и пока не будут подписаны лицензионные соглашения. На это нужны время, и деньги.

Чем современной новая технология, тем труднее бывает провести маркетинговые и бизнес-оценки. Поэтому чем больше потенциал новой технологии, тем больше риск и времени, которое необходимо для принятия решения о том, что нужна поддержка для выхода на Направление IV.

Наращивание производства от уровня экспериментального завода до уровня производства (Направление IV → Направление V) требует даже больше капитала и оценки рынка. Очень важно знать размер производственной базы, необходимой для достижения прогнозируемых небольших доходов. Однако производительность должна быть нацелена на прогнозы продаж. Таким образом, выделение прибыльных ниш на рынках в первые годы наращивания производства является ключевым требованием прогнозирования соотношения прибыли / риска для новой технологии. Большие корпорации об-

ладают опытом и знаниями, для того чтобы выполнить такие оценки, но их большие накладные расходы приводят к раздуванию доходности, необходимой для успешной работы предприятия.

Маленькие пусковые компании, наоборот, имеют низкие накладные расходы, но часто не обладают способностями точно оценить многочисленные факторы, действующие при переходе от Направления к Направлению и во время этапов в Направлении V.

23.3. Факторы, влияющие на быструю передачу технологии

Быстрая передача технологии зависит от нескольких основных факторов.

1. Исследователи, отвечающие за создание технологии (Направление I) и патенты (Направление II), должны принимать участие в начальных этапах Направления III (оценка рынка) и Направления IV (демонстрация технологии). Средства для компенсации им затраченного времени должны быть включены в бюджеты Направлений III и IV, для того чтобы обеспечить сотрудничество исследователей.

2. Переходы между Направлениями I, II и III должны быть быстрыми и эффективными. Для достижения этой цели требуется структура управления, которая быстро рассматривает раскрытие технологии и патентов. Лучше не подавать документы на выдачу патента, нежели допускать задержку на многие месяцы. Команда исследователей должна осознавать необходимость раннего раскрытия выводов и открытий так, чтобы патентный поиск начинался, пока будет проходить преобразование теории в практику.

3. Лицензионные соглашения должны быть гибкими, для того чтобы обеспечивать быструю реализацию Направлений II, III и IV одновременно, даже если информация по проведению оценки рынка (Направление III) является неполной. Должно состояться несколько повторений оценки рынка по мере предоставления данных, поступающих с Направления IV.

4. Этапы с конкретными сроками реализации должны быть согласованы исследовательской командой, управленческой командой, командой маркетинга и разработки продукции, которые отвечают за Направления III и IV. Эти сроки должны быть согласованы вместе с бюджетами, в которые необходимо заложить премиальные стимулы. Администрация (команда управления) должна иметь в виду, что команды университетских исследователей

имеют мало стимулов (если вообще их имеют), особенно если они не заложены в лицензионные соглашения.

5. Для реализации Направлений III и IV должен быть предусмотрен достаточный объем капитала. Капитал должен предоставляться этапами, соответствующими этапам по выполнению каждого направления. Исследователи, возможно, не захотят соглашаться на этапы и конкретные сроки, поскольку это противоречит культуре исследований. Однако увязывание бюджетов с результатами работы – это один из путей обеспечения того, что капитал будет ориентирован на конечные результаты направлений, а не на то, чтобы его тратили для продолжения исследований. *Одним из простейших способов задержать процесс передачи технологии* является продолжение выполнения исследований на Направлении I при ограниченных ресурсах капитала вместо перемещения программы на Направления III и IV. Это часто происходит в университетах, поскольку заработная плата и продвижение по службе зависят от публикаций, что является основным конечным результатом Направления I.

23.4. Альтернативные пути в направлении коммерциализации биоматериалов

Когда технология создается внутри корпорации, обычно действует структура управления, принимающая решения и бюджеты для Направлений II, III, IV и V. Этапы и сроки часто навязываются как часть требований к выполняемой работе участвующих команд. В отличие от этого подхода, в условиях, когда технология создается внутри университета или государственной лаборатории, структура управления или бюджет для Направлений III и IV отсутствуют. В этом случае принцип состоит, как правило, *в заключении лицензионного соглашения с компанией*. Имеется пять вариантов реализации процесса передачи технологии, как это показано на рис. 51. Каждый вариант имеет разную степень риска, время и личные капиталовложения, связанные с ним. Высота столбика пропорциональна этим факторам. Ширина столбика представляет потенциальную выплату: чем больше риск, тем больше потенциальная выплата.

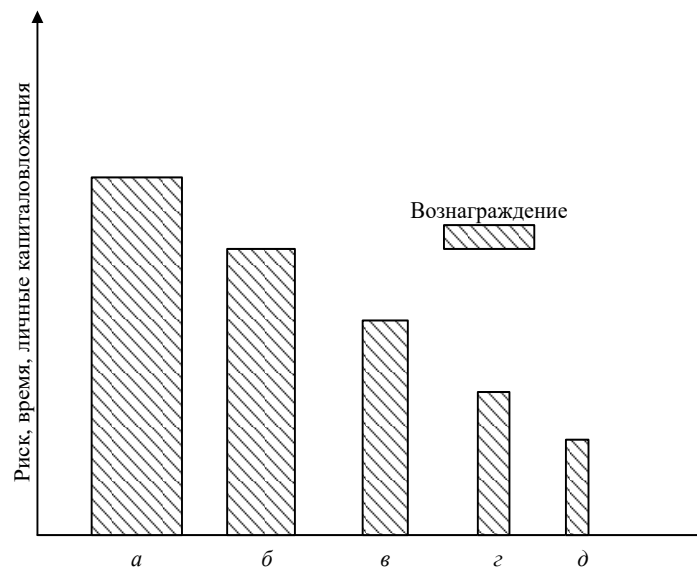


Рисунок 51 – Варианты достижения коммерциализации нового материала или изделия на основе инжиниринга тканей:

- а – начало личного участия; б – начало партнерства;
- в – запуск частного размещения капитала или совместный капитал;
- с – лицензия на запуск; д – лицензия, выданная большой корпорации

24. Этические вопросы

Научные и технологические задачи, описанные в данном учебном пособии, заключаются в том, чтобы улучшить качество жизни населения. Мы пришли к выводу, что существует три альтернативных пути восстановления или замены пораженных недугом, поврежденных или изношенных тканей и органов:

- ❖ трансплантация;
- ❖ имплантация;
- ❖ инжиниринг тканей.

Эти варианты обобщены на рис. 52.



Рисунок 52 – Революционные изменения в лечении ортопедических дефектов на протяжении последнего столетия

Существует некоторая неясность в связи с каждым из трех вариантов восстановления и замены тканей и органов. *Аутогенные трансплантаты* (трансплантаты из собственного организма пациента в другую часть организма того же пациента) считаются «золотым стандартом», но количество имеющегося материала ограничено, а получение аутоотрансплантата является болезненной хирургической операцией. *Ксенотрансплантаты* (трансплантаты от другого человека) ограничены из-за малой доступности, высокой стоимости и необходимости приема иммуносупрессоров в течение всей жизни пациента.

Использование имплантатов, протезов или искусственных органов для восстановления или замены частей организма практикуется гораздо чаще, чем использование трансплантатов, поскольку они более доступны и редко отторгаются иммунной системой организма. Однако следует помнить, что *все имплантаты и искусственные органы* изготовлены человеком. У них имеется *три основных ограничения*:

- отсутствует способность к самовосстановлению;
- отсутствует способность к самоадаптации;
- их механические и биологические свойства представляют собой компромисс для заменяемых живых тканей и органов.

Таким образом, *никакие искусственные запасные части не являются полными аналогами живых частей*, которые они заменяют. Поэтому успехи и удаchi их применения всегда относительны, так же как и в случае трансплантатов. Существует вероятность того, что имплантат или трансплантат выйдут из строя и потребуют замены во время жизни реципиента.

Инжиниринг тканей и органов предоставляет третий вариант того, как можно обойти ограничения в использовании трансплантатов и имплантатов. Цель состоит в том, чтобы использовать собственные клетки пациента или иммунотолерантный «универсальный» источник клеток для выращивания тканей или органов для замены *in vitro* (инжиниринг тканей) с последующей трансплантацией пациенту. Или же клетки, полученные посредством инжиниринга тканей, могут быть помещены в организм пациента, где они стимулируют регенерацию тканей и органов.

24.1. Этические проблемы

Все три варианта восстановления и замены тканей и органов, названные выше (см. рис. 52), имеют ограничения и неопределенности и представляют собой компромисс. Необходимо принимать решение относительно того, какой вариант использовать для пациента. Это решение принимает врач, пациент и родственники, часто в рамках ограниченных ресурсов. Проблема заключается в том, что из столкновения неопределенностей возникают этические дилеммы. Стало все сложнее определять относительную ценность альтернативных вариантов медицинского лечения. Трудность заключается в расширении альтернатив. Прежде чем имплантаты и трансплантаты стали доступными, решение стоматолога или хирурга, а также пациента было про-

стым. Если болит зуб, его удаляют. Если болит бедро, его пытаются заменить. Если остановилось сердце, наступает смерть. Одна проблема – одно решение.

Сегодняшняя технократическая медицина предлагает значительно больше альтернативных вариантов, не все из которых представляют одинаковую ценность с точки зрения риска, выгоды и стоимости. Отсюда эти *альтернативные варианты часто создают неопределенности, а также этические и моральные дилеммы*. Ложные ожидания «чудодейственного» излечения и нежелание принимать вероятность выхода имплантатов и трансплантатов из строя делают этическую проблему более сложной. Вышедший из строя протез – это очень плохой вариант по многим причинам. С возрастом его восстановление после обширного хирургического вмешательства протекает труднее, так как ткани организма-хозяина становятся менее способны к восстановлению, чем в молодом возрасте. Всегда существует некоторая доля вероятности, что пациент не проснется после анестезии, погибнет от тромбов или сердечной недостаточности или будет инфицирован во время или после операции. Все это осложняет лечение. Для каждого имплантата или трансплантата, являющегося средством излечения, существует определенная вероятность того, что какой-либо другой имплантат или трансплантат будет «неудачным». Например, протезы всего бедра имели у миллионов пациентов огромный успех. Однако существует и вероятность неудачи, требующая повторной операции, составляющая приблизительно 3–5 % в течение первых 3–5 лет после имплантации и до 10–15 % по истечении 10–15 лет. Суммарный эффект этих неудач большой, например из приблизительно 40 тыс. имплантаций бедра в год в Великобритании более 5 тыс. составляют повторные операции. Аналогичная статистика существует для всех имплантатов и трансплантатов и ведет к неопределенности в вопросе, кто должен принимать решение по относительным приоритетам.

24.2. Общие моральные принципы

Среди философов имеется единство мнений о трех общих принципах, которые могут использоваться для направления и принятия этических решений. *Моральные принципы* – это уважение личности, благодеяние и справедливость.

Принцип уважения личности относится к понятию личного самоуправления. Это противоположность рабству. Он исходит из того, что индивидуум обладает присущей ему ценностью и имеет право определять свою собственную судьбу. Этот принцип права личности на выбор является основополагающим вопросом, который управляет медицинскими ситуациями. Многие философы-моралисты считают, что данный принцип стоит выше других в иерархии этических принципов.

Принцип благодеяния заключается в том, что действие или решение не должно наносить вред другому, должно предотвращать или исключать вред или содействовать благу другого. Этот принцип гласит, что нравственно помогать или предотвращать нанесение вреда другому. И наоборот, безнравственно причинять ущерб или мешать оказанию помощи другому.

Моральный принцип справедливости требует, чтобы одинаковые случаи трактовались одинаково. Это простое понятие называется формальным принципом справедливости или равенства. Однако этот принцип не указывает, как определять равенство или пропорцию в принятии моральных решений. Поэтому этот принцип в его формальном смысле не дает моральной ориентации в отношении принятия решений о поведении и образе действий при выборе варианта лечения.

Философы-моралисты разработали различные альтернативы, называемые *материальными или распределительными принципами справедливости*. Их цель – предоставить базу для суждения об относительных потребностях людей. Это необходимо и важно, так как нам хорошо известно, что люди и их потребности не бывают равными, в особенности в отношении здоровья и здравоохранения. Например, некоторые люди остаются здоровыми большую часть своей жизни. Некоторые проживают жизнь, полную недугов, или даже рождаются с генетическими дефектами. Их потребности в значительной степени отличаются, поэтому решение относительно справедливого распределения средств здравоохранения не является таким уж простым. Поскольку люди не равны, с ними нельзя обращаться одинаково, как этого требует формальный принцип справедливости.

24.3. *Последствия теоретической проблемы*

Проблема того, как оценивать, или взвешивать различные моральные принципы, остается неразрешенной в современной моральной теории. Это означает, что, когда принцип уважения автономности противоречит либо принципу благодеяния, либо принципу справедливости, приемлемых средств разрешения конфликта не существует.

Последствием этой теоретической проблемы является то, что она ведет к неопределенности в оценке этической реакции в отдельных случаях. Для больших групп населения могут быть разработаны директивы этического поведения, но они могут быть не приняты отдельными лицами внутри группы. Люди часто считают, что общие директивы или ограничения являются несправедливыми, если они не затрагивают их собственных интересов. Таким образом, *неопределенность в связи с относительным значением трех этических принципов приводит к конфликтам между людьми и между отдельными людьми и обществом*.

Например, рассмотрим ситуацию, когда имплантат выходит из строя. Между пациентом и хирургом, между больницей и производителем или всеми тремя может возникнуть конфликт. Почему происходит этот конфликт? Пациент пожелал поставить себе имплантат, с ними были обсуждены риски, и было получено его письменное согласие. Таким образом, был соблюден принцип уважения автономии пациента. Из истории болезни отдельного пациента хирургу было видно, что выбранный имплантат и процедура имели высокую вероятность успеха, но недостаточно выполнялся принцип благодеяния. Однако возникает конфликт, когда пациенту покажется, что был нарушен принцип справедливости. Пациент ожидает не только равенства в обращении, но также равных результатов. Пациента и его родственников не интересует статистика, а также то, что 85–95 % аналогичных случаев, в которых применялось такое лечение, имели успешные результаты. Их беспокоит только то, что их случай оказался неудачным.

24.4. Источники конфликта

Принцип справедливости только указывает, что «с подобными случаями обращаются одинаково». Однако, поскольку личности разные, и результаты тоже могут быть разными, даже если обращение (лечение) одинаковое. Разница в результатах лечения по сравнению с ожиданиями может неверно восприниматься как несправедливость.

Источники этического конфликта:

- представление, что нарушен принцип справедливости;
- необоснованные ожидания равных последствий действия вместо равного исполнения действия;
- акцент на то, что технология обеспечивает ясность;
- непонимание того, что все технологические решения имеют некоторые риски;
- жизнь без рисков невозможна;
- юридическая система, которая не признает межличностных различий.

Каковы причины необоснованных ожиданий успеха имплантата? По крайней мере, речь может идти о трех факторах: человеческой натуре, технологии и жадности.

Человеческая природа состоит в том, что человек хочет того же самого, что и другие. Это ожидание является питательной средой нашей рыночной экономики. То же самое справедливо для имплантатов и трансплантатов. Люди не желают жить с болью, когда начинают стареть. Это разумно. Они узнают в средствах массовой информации, от своего врача или друзей, что определенные имплантаты исключают боль, и поэтому они хотят поставить себе имплантат, если у них болят суставы. Они не слышат и не желают согласиться с тем, что операция связана с риском и возможностью выхода имплантата из строя. Человеческая природа такова, что человек слышит только то, что хочет услышать. Если возникли сложности, то это приводит к необоснованным ожиданиям и выводам, что с человеком поступили несправедливо.

Технология усиливает проблему. Новые разработки в области имплантатов рекламируются как превосходные, даже когда нет долгосрочных данных для больших групп пациентов. Мы живем в технологическом веке, где большинство людей хотят иметь и ожидают, что у них будет самое последнее

и самое новое, будь то электроника, автомобили или имплантаты. Вместе с самым последним и новым приходит ожидание того, что самое последнее и новое – это самое лучшее. Это часто является необоснованным, но, тем не менее, такое представление существует. Быстрые изменения в технологии также ведут к тому, что выбор становится все шире и шире. Хирург и пациент ограничены рамками одного решения: следует ли менять тазобедренный сустав на протез? Вместо этого необходимо принять серию решений, касающихся типа стержня, типа чашки, типа фиксации и т.д. Статистическая основа для оценки риска и благодеяния становится все более неопределенной с увеличением возможности выбора. Пациент может вполне поставить знак равенства между расширением выбора и большей степенью вероятности успеха. В сущности, справедливо может быть обратное, т.е. вероятность успеха для большой группы населения уменьшается при увеличении количества вариантов.

Вышеуказанные факторы могут быть питательной средой *жадности*. По мере того как все больше людей хотят поставить себе и действительно ставят имплантаты, потенциал для прибыли увеличивается пропорционально. По мере того как предоставляется все больше вариантов выбора, становится все более вероятным, что изделие будет рекламироваться ради своей новизны и имиджа, а не ради статистически обоснованного совершенствования благодеяния на протяжении продолжительного периода использования. Нарастающее экономическое давление будет диктовать внедрение новых имплантатов с учетом минимальных стандартов испытания только для того, чтобы предложить что-то новое. Испытания, которые показывают возможность возникновения проблемы, являются нежелательными, и поэтому ими пренебрегают (если их проведение не требуется законодательством). Исследования в области долгосрочной надежности часто не проводятся, так как проведение их означало бы признание, что долгосрочная надежность – это проблема. Таким образом, число имплантатов растет, но необязательно пропорционально растет благодеяние для все большего числа пациентов. Одним из последствий является все возрастающая стоимость медицинского обслуживания и большее число повторных операций.

24.5. Специфические этические проблемы относительно биоматериалов

Существует острая необходимость содействовать проверке и испытаниям во избежание долгосрочных осложнений и повторных операций для ревизии имплантатов. Необходимо выполнять анализ выходов из строя для всех используемых имплантатов, чтобы обеспечить статистическую оценку благодеяния для пациента. На рис. 53 показан тип необходимого анализа.

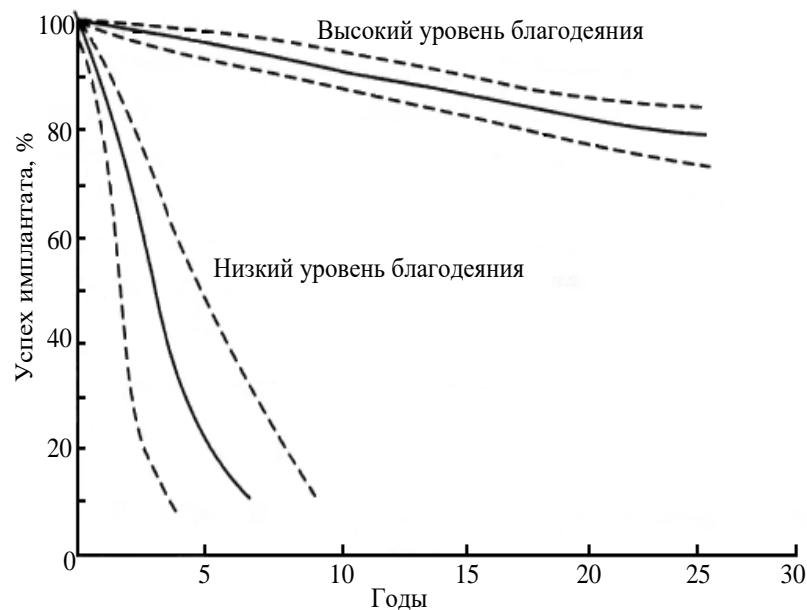


Рисунок 53 – Сравнение выходов из строя имплантатов как функция высокого уровня благодеяния против низкого уровня благодеяния для пациентов

Клинические результаты могут классифицироваться как результаты, обеспечивающие высокий уровень благодеяния (верхние кривые) или низкий уровень благодеяния (нижние кривые). Умеренный уровень благодеяния находится посередине. *Этический принцип благодеяния требует*, чтобы имплантат отвечал высокому стандарту верхней кривой, так как в противном

случае может быть нарушен принцип «прежде всего не причинять вреда». Иными словами, любой имплантат, который функционирует в ограниченных опытах в течение 3–7 лет, как показывает нижняя кривая, не должен вводиться в общее использование. Любой используемый в клинике имплантат, показывающий результаты, соответствующие нижней кривой, должен быть выведен из использования.

Имплантаты умеренного уровня благодеяния должны подвергаться законодательному контролю в целях определения причин выхода из строя и проведения исследований, финансируемых для улучшения функционирования, пока не будет достигнута верхняя кривая.

На рис. 53 также показано, что существует распределение результатов, расширяющееся с течением времени. Статистические данные, которые могут быть использованы для построения подобных кривых, должны составляться профессионалами, причем для всех протезов, находящихся в клиническом использовании в настоящее время. Пациенты должны быть проинформированы об ожидаемой пользе на основе распределения результатов. Это один из нескольких способов противодействовать ложно ожидаемым результатам.

Многие исследователи, клиницисты и производители имплантатов стали жертвами последствий этических конфликтов, возникающих из-за конфликта принципов благодеяния и справедливости. Ожидания населения относительно успехов имплантата будут продолжать расти. Таким образом, имплантаты должны увеличить свою долгосрочную надежность. Если такой надежности обеспечено не будет, то это приведет к негативным последствиям для отдельных пациентов, к усилению правительственного контроля и изданию новых законодательных правил. Подобные механизмы контроля вызовут рост затрат на разработки и создадут негативную спираль, в пределах которой уменьшится число производителей, количество изделий, новых материалов и сфер применения. Данный отрицательный сценарий можно предотвратить объединением усилий, направленных на улучшение долгосрочного функционирования всех типов имплантатов. Всеопределяющий принцип «уважения автономии» должен быть предметом беспокойства для нас всех. Для принятия критических решений человек пользуется информацией из всех источников. Такая информация всегда должна быть самой лучшей, самой полной и не должна быть искажена коммерческими или личными предпочтениями.

Контрольные вопросы

1. В чем состоит отличие европейской нормативной классификации биоматериалов и медицинских устройств от американской?
2. Дайте полное определение медицинского устройства.
3. По какому принципу классифицируются медицинские устройства в FDA?
4. На какие классы подразделяются медицинские устройства в FDA?
5. На какие классы подразделяются медицинские устройства в ЕС?
6. Дайте хронологическое описание истории агентств законодательного регулирования.
7. Что такое марка CE? Перечислите основные требования для получения марки CE.
8. Какие существуют различия между правилами, касающиеся медицинских устройств, в ЕС и США?
9. Расшифруйте термин «передача технологии».
10. Какие существуют направления передачи технологии?
11. В чем состоит эффективность передачи технологии?
12. Перечислите факторы, влияющие на быструю передачу технологии.
13. Какие существуют варианты реализации процесса передачи технологии?
14. В чем состоят этические проблемы восстановления и замены тканей и органов?
15. Какие общие моральные принципы могут использоваться для принятия этических решений?
16. Перечислите источники этического конфликта.
17. Опишите специфические этические проблемы относительно биоматериалов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуев Б.Д. Теоретическое обоснование устойчивого интрамедуллярного остеосинтеза при переломе бедренной кости / Б.Д. Абдуев // Ортопедия, травматология и протезирование. – № 6, 1984 г. – С. 14–18.
2. Баллюзек Ф.В. Нанотехнология для медицины / Ф.В. Баллюзек, А.С. Куркаев – С-Петербург, 2008 г. – 103 с.
3. Баскевич М.Я. Закрытый интрамедуллярный остеосинтез переломов бедренной кости гвоздем с дистальным трубчатым запором / М.Я. Баскевич, В.И. Кучерюк, А.С. Сурков // Научный вестник Тюменской медицинской академии. – № 5, 2001 г. – С. 32–33.
4. Берлин А.А. Принципы создания композиционных полимерных материалов / А.А. Берлин, С.А. Вольфсон – М., Химия, 1990 г. – 405 с.
5. Брандон Д. Микроструктура материалов. Методы исследования и контроля / Д. Брандон, У. Каплан – М., Техносфера, 2009 г. – 384 с.
6. Генералов М.Б. Криохимическая нанотехнология. Учебное пособие для Вузов / М.Б. Генералов – М., ИКЦ «Академкнига», 2006 г. – 302 с.
7. Грудянов А.И. Методика направленной регенерации тканей. Подсадочные материалы / А.И. Грудянов, П.В. Чупахин – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007 г. – 64 с.
8. Диденко А.Н. Эффекты дальнего действия в ионно-имплантированных металлических материалах / А.Н. Диденко, Ю.П. Шаркеев, Э.В. Козлов – Томск: Изд-во научно-технической литературы, 2004 г. – С. 328.
9. Желтоножская Т.Б. Привитые сополимеры с химически комплементарными компонентами – особый класс высокомолекулярных соединений / Т.Б. Желтоножская, Н.Е. Загданская, О.В. Демченко // Успехи химии – № 8, 2004 г. – С. 877–896.
10. Калачева Л.Д. Регенерация тканей при квантово-световом воздействии / Л.Д. Калачева, В.Ф. Сыч // Морфология, изд-во ООО «Эскулап», 2007 г. – С. 98–100.
11. Кербер М.Л. Полимерные композиционные материалы. Структура. Свойства. Технологии / М.Л. Кербер – Изд-во «Профессия», 2008 г. – 352 с.

12. Кларк Э.Р. Микроскопические методы исследования материалов / Э.Р. Кларк, Эберхардт – М., Техносфера, 2008 г. – 376 с.

13. Кобаеси. Введение в нанотехнологию. Перевод с японского языка / Кобаеси – М. Бином. Лаборатория знаний, 2005 г. – 380 с.

14. Колобов Ю.Р. Биоконпозиционный материал с высокой совместимостью для травматологии и ортопедии / Ю.Р. Колобов, Ю.П. Шаркеев, А.В. Карлов // Деформация и разрушение материалов – № 4, 2005 г. – С. 2–9.

15. Лахтин В.М. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В.М. Лахтин, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин – Вестник РАМН, 2008 г. – С. 50–55.

16. Мальцева П.П. Мир материалов и технологий. Наноматериалы, нанотехнологии, наносистемы. Мировые достижения за 2005 г. / П.П. Мальцева – М., Техносфера, 2006 г. – 326 с.

17. Михайлин Ю.А. Специальные полимерные композиционные материалы / Ю.А. Михайлин – Научные основы и технологии, 2009 г. – 342 с.

18. Нолтинг Б. Новейшие методы исследования биосистем / Б. Нолтинг – М., Техносфера, 2005 г. – 256 с.

19. Параскевич В.Л. Дентальная имплантология (2-е изд.) / В.Л. Параскевич – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006 г. – 400 с.

20. Петровский В.Я. Физические принципы и технологические аспекты получения градиентных композитов на основе безкислородной керамики // Порошковая металлургия – № 7/8, 1998 г. – С. 50–54.

21. Пул Ч. Мир материалов и технологий. Нанотехнология 4-е издание. Перевод с английского под ред. Ю.И. Головина / Ч. Пул, Ф. Оуэнс – М., Техносфера, 2009 г. – 335 с.

22. Родин В.В. структура и свойства интерполимерных комплексов как полимерных носителей биологически активных соединений / В.В. Родин, А.В. Харенко, В.А. Кеменова // Коллоидный журнал – № 5, 1996 г. – С. 659–667.

23. Руттен Л. Эстетика имплантатов / Л. Руттен, П. Руттен – М.: Информационное агенство «DENT», 2006 г. – 334 с.

24. Рыжонков Д.И. Наноматериалы. Учебное пособие / Д.И. Рыжонков, В.В. Левина – М. Бином. Лаборатория знаний, 2008 г. – 352 с.

25. Свифт К.Г. Выбор процесса. От разработки до производства / К.Г. Свифт, Дж. Буккер – Издательский Дом «Технологии», 2009 г. – 400 с.

26. Сергеев Г.Б. Нанохимия / Г.Б. Сергеев – Изд-во МГУ, 2003 г. – 286 с.

27. Солнцев Ю.П. Нанотехнологии и специальные материалы. Учебник для Вузов / Ю.П. Солнцев, Е.И. Пряхин – Химиздат, С-Петербург, 2007 г. – 288 с.

28. Тихонов И.В. Биотехнология / И.В. Тихонов, Е.А. Рубан, Т.Н. Грязнева – С-Петербург. Гиорд, 2008 г. – 703 с.

29. Третьяков Ю.Д. Нанотехнология. Азбука для всех / Ю.Д. Третьяков – М., Физматлит, 2009 г. – 365 с.

30. Уайт В. Технология чистых помещений. Основы проектирования, испытаний и эксплуатации / В. Уайт – М., 2002 г. – 296 с.

31. Унгбаев Т.Э. Устройство для лечения диафизарных переломов / Т.Э. Унгбаев, Р.Р. Ходжаев, Н.В. Ступина // Ортопедия, травматология – №1, 1990 г. С. 32–33.

32. Федотов А.Е. Чистые помещения / А.Е. Федотов – М., «Асинком», 2003 г. – 575 с.

33. Харгиттай И. Откровенная наука. Беседы с корифеями биохимии и медицинской химии / И. Харгиттай – Изд-во КомКнига, 2006 г. – 544 с.

34. Хенч Л. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей / Л. Хенч, Д. Джонс – М., Техносфера, 2007 г. – 304 с.

35. Хлусов И.А., Остеогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток костного мозга *in situ*: роль физико-химических свойств искусственных поверхностей / И.А. Хлусов, А.В. Карлов, Ю.П. Шаркеев // Клеточные технологии в биологии и медицине – № 3, 2005 г. – С. 164–173.

36. Шаркеев Ю.П. Объемный ультрамелкозернистый титан с высокими механическими свойствами для медицинских имплантатов / Ю.П. Шаркеев, А.Ю. Ерошенко, А.Д. Братчиков // Нанотехника – №3 (11), 2007 г. – С. 81–88.

37. Шашкина Г.А. Формирование биокерамических покрытий с высоким содержанием кальция на титане / Г.А. Шашкина, Ю.П. Шаркеев, Ю.П. Колобов // Перспективные материалы – №1, 2005 г. – С. 41–46.
38. Эппле М. Биоматериалы и биоминерализация. Перевод с немецкого под ред. В.Ф. Пичугина / М. Эппле – Томск, изд-во «Ветер», 2007 г. – 165 с.
39. Atala A. Methods of Tissue Engineering / A. Atala, R. Lanza – Philadelphia, Academic Press, 2001.
40. Banner N. Lung Transplantation / N. Banner, J.M. Polak, M. Yacoub – Cambridge University Press, 2002.
41. Beauchamp T.L. Contemporary Issues in Bioethics / T.L. Beauchamp, L. Walters – California, Wadsworth Publishing Co., 1989.
42. Callister W.D. Materials Science and Engineering / W.D. Callister – New York, Wiley, 2003.
43. Chawla K.K. Ceramic Matrix Composites / K.K. Chawla – London, Kluwer Academic Publishers, 2003.
44. Gellin R.G. Regeneration of the periodontium utilizing the principles of guided tissue regeneration / R.G. Gellin, D.L. Mishkin // Clinical dentistry, 1990. – P. 1–29.
45. Hench L.L. Science, Faith and Ethic / L.L. Hench – London, Imperial College Press, 2000.
46. Hench L.L. Third generation biomedical materials / L.L. Hench, J.M. Polak – Science, 2002. – 1014 p.
47. Henrich W.L. Principles and Practice of Dialysis / W.L. Henrich – New York, Lippincott, Williams and Wilkins, 2003.
48. Hilton B. Wrestling with the New Medicine's Life and Death Dilemmas Tennessee / B. Hilton – Abingdon Press, 1991.
49. Hoffman A.S. Biomaterials Science / A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons – Philadelphia, Academic Press, 2004.
50. Karring T. Development of the principle of guided tissue regeneration / T. Karring, K. Warrer // Scientific, 1992. – P. 19–24.
51. Lanza R. Principles of Tissue Engineering / R. Lanza, R. Langer, W.L. Chick – Philadelphia, Academic Press, 2000.

52. Marshak D.R. Stem Cell Biology / D.R. Marshak, R.L. Gardner, D. Gottlieb – New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
53. Nerem R.M. Critical Issues in Vascular Tissue Engineering / R.M. Nerem – Int. Congress Series, 2004. – 359 p.
54. Owen W.F. Dialysis and Transplantation / W.F. Owen – Philadelphia, W.B. Saunders, 1999.
55. Palsson B. Tissue Engineering / B. Palsson – London, Prentice Hall, 2004.
56. Paul J.P. Biomaterials in Artificial Organs / J.P. Paul – Basingstoke, Palgrave Macmillan, 1984.
57. Ratner B.D. Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, 2nd edition / B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen – New York, Academic Press, 2004.
58. Simon S.R. Orthopaedic Basic Science / S.R. Simon – Illinois, American Academy of Orthopedic Surgeons, 1994.
59. Thompson I.D. Medical applications of composites / I.D. Thompson, L.L. Hench – Comprehensive Composite Materials, 2000. – P. 727–753.
60. William P. Fundamental Immunology / P. William – Philadelphia, Lippincott-Raven, 1999.
61. Wise D.L. The Biomaterials and Bioengineering Handbook / D.L. Wise – New York, Marcel Dekker, 2000.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Часть I. ПОНЯТИЕ О ЖИВЫХ И НЕЖИВЫХ МАТЕРИАЛАХ	5
1. Металлы	5
1.1. Металлическая связь	6
1.2. Микроструктура.....	7
1.3. Механические свойства	8
1.4. Усталостные свойства.....	10
1.5. Твердость и износ.....	11
1.6. Запоминание формы и сверхупругость.....	12
1.7. Коррозия.....	13
1.8. Воздействие обработки на структуру, свойства и надежность.....	16
1.9. Клинические требования.....	16
2. Керамика	17
2.1. Атомные связи и атомные структуры в керамике.....	18
2.2. Микроструктура керамики.....	21
2.3. Механические свойства керамических материалов.....	22
2.4. Обработка керамики.....	25
2.5. Влияние способа получения материалов на их микроструктуру и свойства.....	26
2.6. Клинические требования.....	27
3. Полимеры	29
3.1. Конфигурация и конформация полимеров.....	33
3.2. Регулярность молекулярной структуры.....	34
3.3. Температура стеклования.....	34
3.4. Обработка полимеров.....	35
3.5. Свойства полимеров.....	37
3.6. Полимерные композиты.....	38
4. Биокompозиты	39
4.1. Биоактивные керамико-полимерные композиты.....	41
4.2. Конструкторские критерии биокompозитов.....	43
4.3. Инертные керамические композиты.....	44
4.4. Поглощаемые полимерные матрицы.....	46

5. Клетки и ткани	49
5.1. Основные определения.....	49
5.2. Эпителий.....	51
5.3. Соединительная ткань.....	55
5.4. Мышцы.....	57
5.5. Нервная ткань.....	58
6. Воспаление и заживление ран	59
6.1. Основные определения.....	60
6.2. Влияние имплантации.....	61
6.3. Нормальное заживление.....	61
6.4. Заживление раны и имплантаты.....	63
6.5. Взаимодействие между имплантатом и тканью.....	64
Часть II. КЛИНИЧЕСКИЕ ПОТРЕБНОСТИ И ПОНЯТИЕ О РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ	67
7. Скелет	67
7.1. Структурные компоненты кости.....	69
7.2. Микроструктурные особенности кости.....	70
7.3. Биомеханика кости: анизотропия свойств кости.....	72
7.4. Влияние возраста и скорости натяжения на кость, усталостное разрушение кости	73
7.5. Структура сухожилий и связок.....	74
7.6. Хрящ.....	77
8. Сердечно-сосудистая система	80
8.1. Сердечно-сосудистая патология.....	82
8.2. Контроль и лечение сердечно-сосудистых патологий.....	84
9. Биомедицинские полимеры	86
9.1. Биоинертные полимеры.....	86
9.2. Биорассасывающиеся полимеры.....	91
10. Биомедицинские гидрогели	95
10.1. Механизмы образования гидрогеля.....	95
10.2. Свойства гидрогелей.....	97
10.3. Типы гидрогелей.....	98
10.4. Гидрогели для инжиниринга тканей.....	101

Часть III. ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОМАТЕРИАЛОВ.....	106
11. Восстановление скелетных тканей.....	106
11.1. Механизмы и уровни восстановления кости.....	106
11.2. Цели фиксации перелома.....	107
11.3. Ортопедические металлы.....	109
11.4. Устройства для фиксации перелома.....	110
11.5. Биоактивные материалы в качестве добавок костного трансплантата.....	113
12. Замена суставов.....	114
12.1. Основные определения.....	116
12.2. Замена сустава бедра.....	117
12.3. Механизмы выхода из строя.....	118
12.4. Выживаемость протеза всего бедра.....	119
12.5. Новые разработки, направленные на улучшение выживаемости.....	121
12.6. Замена коленного сустава.....	122
12.7. Замена сустава лодыжки.....	123
12.8. Замена сустава плеча.....	124
12.9. Замена локтевого сустава.....	124
12.10. Замена суставов пальцев.....	125
12.11. Протезирование межпозвоночных дисков.....	125
13. Искусственные органы.....	126
13.1. Почка.....	126
13.2. Сердце.....	127
13.3. Легкие.....	128
13.4. Печень.....	129
13.5. Поджелудочная железа.....	129
13.6. Кожа.....	131
13.7. Ухо.....	132
13.8. Глаз.....	135
13.9. Нос.....	137
13.10. Гортань.....	137
14. Транспорт веществ в искусственных органах.....	139
14.1. Конвективный транспорт.....	139
14.2. Диффузный транспорт.....	147

14.3. Взаимодействие конвекции и диффузии.....	153
14.4. Дисперсия.....	154
15. Искусственные системы обмена.....	155
15.1. Основные определения.....	156
15.2. Вязкость крови.....	157
15.3. Воздействие сдвига на кровяные клетки.....	158
15.4. Взаимодействие крови и воздуха.....	160
15.5. Поток крови в искусственных устройствах.....	161
15.6. Обменники.....	162
15.7. Диализ.....	167
16. Системы сердечно-сосудистой стимуляции.....	169
16.1. Основные определения.....	170
16.2. Клапаны сердца.....	171
16.3. Насосы.....	175
16.4. Протезы сосудов.....	180
Часть IV. ИНЖИНИРИНГ ТКАНЕЙ.....	183
17. Введение в инжиниринг тканей.....	183
17.1. Основные определения.....	183
17.2. Проблема.....	184
17.3. Источники клеток и условия культивирования клеток.....	185
17.4. Трехмерные взаимодействия.....	189
17.5. Перепрограммирование клеток.....	190
17.6. Перспектива.....	190
18. Каркасы для инжиниринга тканей.....	192
18.1. Классы потенциальных каркасных материалов.....	193
18.2. Критерии идеальных каркасов.....	194
18.3. Полимерные каркасы.....	197
18.4. Биоактивные керамические каркасы.....	200
18.5. Каркасы из биоактивного стекла.....	203
18.6. Композиты.....	205
18.7. Контроль за архитектурой.....	206

19. Основы культивирования клеток и использование клеточных культур для производства биоматериалов и инжиниринга тканей.....	208	23. Передача технологии.....	251
19.1. Стерилизация.....	210	23.1. Направления передачи технологии.....	251
19.2. Протоколы ведения клеточных культур.....	215	23.2. Эффективная передача технологии.....	254
19.3. Основные методы оценки жизнеспособности клеток.....	219	23.3. Факторы, влияющие на быструю передачу технологии.....	256
20. Иммунохимические методы в инжиниринге тканей и наука о биоматериалах.....	221	23.4. Альтернативные пути в направлении коммерциализации биоматериалов.....	257
20.1. Основные иммунологические принципы.....	222	24. Этические вопросы.....	258
20.2. Распространенные иммунохимические методы, используемые в науке о биоматериалах.....	224	24.1. Этические проблемы.....	260
20.3. Применение иммунохимических методов в науке о биоматериалах и в инжиниринге тканей.....	231	24.2. Общие моральные принципы.....	261
21. Применение инжиниринга тканей в клинике.....	234	24.3. Последствия теоретической проблемы.....	263
21.1. Кожа.....	236	24.4. Источники конфликта.....	264
21.2. Хрящ.....	237	24.5. Специфические этические проблемы относительно биоматериалов.....	266
21.3. Сухожилия, связки и кость.....	237	Список литературы.....	269
21.4. Поджелудочная железа (островки Лангерганса).....	238		
21.5. Печень.....	239		
21.6. Почка.....	239		
21.7. Сердечно-сосудистая система.....	240		
21.8. Нервы.....	241		
Часть V. СОЦИАЛЬНЫЕ, ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫЕ И ЭТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ.....	243		
22. Нормативная классификация биоматериалов и медицинских устройств.....	243		
22.1. Законодательное регулирование медицинских устройств.....	244		
22.2. Классификация медицинских устройств.....	245		
22.3. История агентств законодательного регулирования.....	246		
22.4. Марка CE.....	248		
22.5. Отличия правил FDA и правил ЕС.....	249		

Навчальне видання

РОССИХІН Василь В'ячеславович
ІЛЬІНСЬКИЙ Олександр Іванович
КЛЕЩЕВ Микола Федосович

БІОМАТЕРІАЛОЗНАВСТВО

Навчальний посібник
для студентів біотехнологічного напрямку
у тому числі іноземних

Російською мовою

Роботу до видання рекомендувала *М. Г. Зінченко*
В авторській редакції
Комп'ютерна верстка *Л. В. Северіна*

План 2010 р., поз. 104 / 54-05

Підп. до друку 20.09.10. Формат 60 × 84 1/16. Папір офсетний.
Riso-друк. Гарнітура Таймс. Ум. друк. арк. 16,2. Наклад 100 прим.
Зам. № 29. Ціна договірна.

Видавничий центр НТУ «ХП».
Свідоцтво про державну реєстрацію ДК № 3657 від 24.12.2009 р.
61002, Харків, вул. Фрунзе, 21

Друкарня НТУ «ХП». 61002, Харків, вул. Фрунзе, 21