

БИОАКТИВНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПОЗИТЫ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНЫХ ТКАНЕЙ.

В.К. Попов, Л.И. Кротова (ИПЛИТ РАН), А.И. Воложин (МГМСУ, г. Москва), А.П. Краснов (ИНЕОС РАН, г. Москва), В.В. Рогинский (ФГУ ЦНИИС и ЧЛХ Росмедтехнологий, г. Москва), С.М. Хоудл (Ноттингемский Университет, Великобритания).

Разработка и создание новых полимерных композитов для замены поврежденных или отсутствующих фрагментов скелета, а также направленной регенерации костной ткани в ортопедии и черепно-челюстно-лицевой хирургии являются в настоящее время одними из наиболее интенсивно развивающихся направлений биомедицинского материаловедения [1]. Применение аллогraftов (человеческая кость), за исключением аутогенной кости (костная ткань самого пациента) сопряжено с риском передачи различных вирусных заболеваний. Кроме того, дефицит данного материала ограничивает возможность его широкого использования. Ксенографты (кости животных), в силу наличия потенциально антигенных составляющих, таят в себе угрозу иммунных реакций, приводящих к воспалению окружающих имплантат тканей и его последующему отторжению [2]. Кораллы и различные типы биоактивных керамик, получаемые спеканием порошкообразных фосфатов кальция (гидроксиапатит, трикальций фосфат и др.), а также биосовместимые стекла (Al_2O_3 , TiO_2 , ZrO_2 , SiO_2) являются чересчур твердыми и неэластичными, что препятствует процессу их интеграции с живыми тканями организма, сильно отличающейся от них своими биомеханическими характеристиками. Помимо этого, в ряде случаев твердые микрочастицы, образующиеся в процессе эксплуатации этих материалов, являются источником различных воспалительных процессов, приводящих к отторжению имплантатов и повторным операциям. Именно поэтому, все больший интерес привлекают к себе различные полимерные материалы и минерал-полимерные композиты на их основе, а также новые методы их обработки с целью производства, как индивидуальных имплантатов, так и матриц для тканевой инженерии.

Различные комбинации современных биотехнологий и физико-химических методов позволяют получать биостабильные и биорезорбируемые (постепенно растворяющиеся в организме) минерал-полимерные матрицы, содержащие необходимый набор костеобразующих клеток (остеокласты, остеобласты, фибробласты и др.), морфогенетических белков и ферментов, инициирующих рост новой костной ткани и контролирующих как скорость этого процесса, так и скорость биоресорбции синтетической основы [3]. В последнее десятилетие наибольший интерес как с точки зрения получения необходимых прочностных свойств, так и особенно с точки зрения повышения биоактивности материала имплантата, представляют минерал-полимерные композиты на основе мелкодисперсных фосфатов кальция - гидроксиапатита (ГАП) и трикальций фосфата (ТКФ) [4, 5]. ГАП является основным минеральным компонентом натуральной костной ткани. Он образует пористую трехмерную матрицу, определяющую высокие физико-механические характеристики кости, благодаря комбинации собственной прочности с эластичностью коллагеновых нитей, прорастающих сквозь такую матрицу. Помимо этого, наряду с остеокластами, остеобластами и ферментами, ГАП непосредственно участвует в биохимическом цикле регенерации костной ткани, продуцируя новую минерализованную основу.

Предложенный и реализованный нами подход по применению сверхкритического диоксида углерода ($sc\text{-}CO_2$) для получения новых минерал-полимерных композитов основан на использовании уникальных свойств сверхкритических флюидов (СКФ) – сред, находящихся при температуре и давлении (Рис.1) выше своих критических значений [6]. Сочетая в себе свойства газов высокого давления (низкая вязкость, высокий коэффициент диффузии) и жидкостей (высокая растворяющая способность), экологически чистые СКФ (например, сверхкритическая двуокись углерода – $T_{кр} = 31^\circ C$, $P_{кр} = 7,2 \text{ МПа}$) позволяют реализовать экстракцию различных органических и неорганических соединений из биоматериалов, полимеров и различных микро- и нанопористых структур с существенно более высокой эффективностью, чем при использовании обычных газов или жидких растворителей. Кроме того, СКФ легко и практически без остатка удаляется из полимера после экстракции простым сбросом давления ниже критического значения.

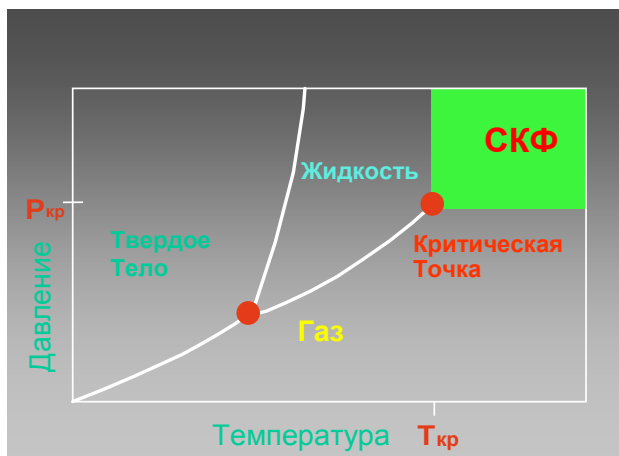


Рис.1. Фазовая Р-Т диаграмма.

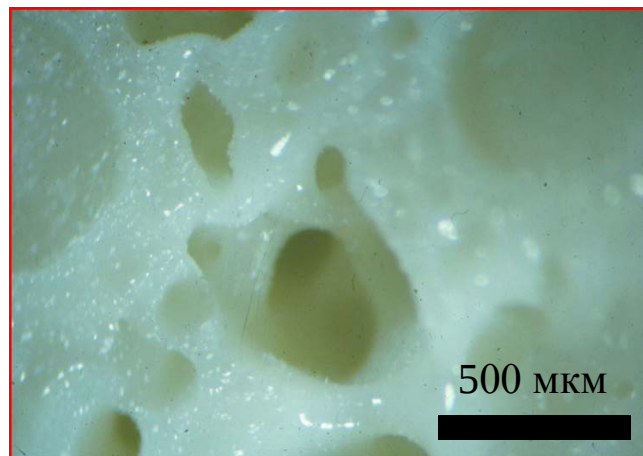


Рис.2. Структура минерал-полимерного композита.

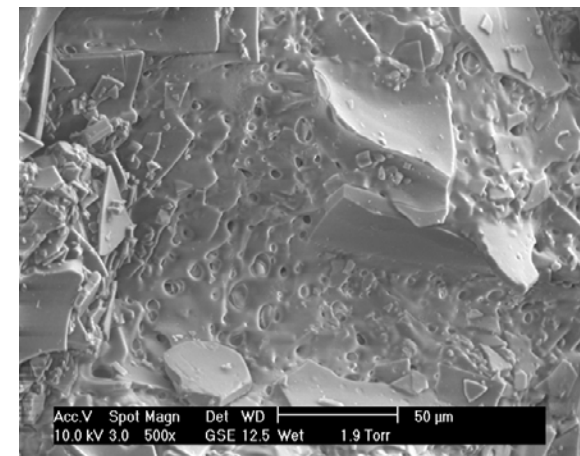


Рис.3. Энзим каталаза в полилактиде.

При взаимодействии с ск- CO_2 , может происходить набухание (или вспенивание) полимерных материалов, существенно облегчающее процесс формирования однородно наполненных полимерных матриц [7]. При этом синтез может проводиться при температурах близких к комнатной и не требует применения дополнительных органических растворителей. Одновременно может происходить удаление растворимых в ск- CO_2 токсичных соединений (непрореагировавшие мономеры, инициаторы полимеризации, пластификаторы и т.д.) и формирование пористой структуры полимерной матрицы при сбросе давления CO_2 до атмосферного значения (Рис.2). Возможна также сверхкритическая флюидная импрегнация (внедрение) в полимеры лекарственных препаратов, способствующих подавлению иммунных реакций и стимулирующих процессы остеосинтеза (Рис.3).

В качестве биостабильных полимеров в наших работах использовались полиакриловые пластмассы “Этакрил-02” и “Протакрил-М” (сополимеры метилметакрилата, метилакрилата и этилметакрилата - Рис.4) производства АО “Стома” (г. Харьков, Украина), широко используемые в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

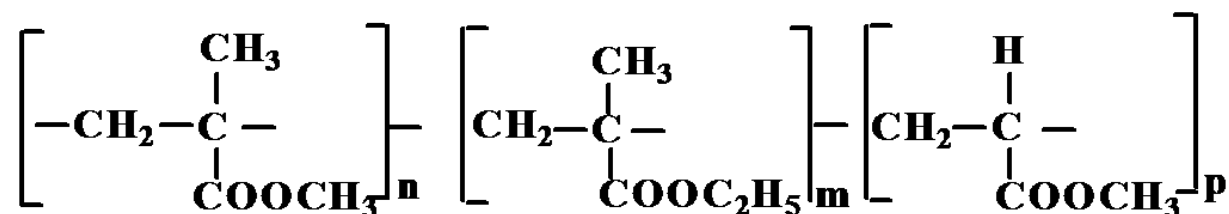


Рис.4. Химическая структура исходной смеси полиакриловых сополимеров.

Биоресорбируемые композиции изготавливались на основе ПЛ (D,L-полилактид Medisorb® 100 DL HIGH IV) и ПЛГ (D,L-полилактогликолид Medisorb® 7525 DLHIGH IV) молекулярной массой $M_w=100000 \div 120000$ производства компании Alkermes (Бостон, МА, США) (Рис.5). Минеральным наполнителем являлся порошкообразный (размер частиц ~ 2 мкм) синтетический ГАП ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) производства фирмы "Полистом" (г. Москва).

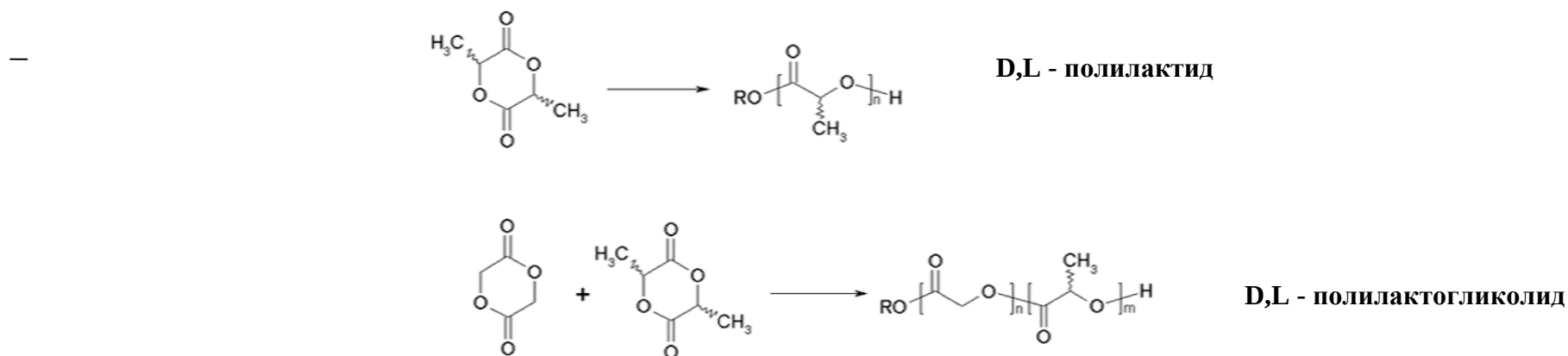


Рис.5. Химическая структура биоресорбируемых алифатических полиэстеров.

Нами предложены и разработаны два основных способа получения биоактивных пористых минерал-полимерных композитов.

Первый способ – применение технологий заливочных компаундов (для полиакрилатов) и литьевого прессования (для ПЛ и ПЛГ) с последующей обработкой в sc-CO_2 . Второй способ – это синтез однородно наполненных ГАП пористых биоактивных и биоресорбируемых композитов непосредственно в среде сверхкритической двуокиси углерода.

Для всех типов полимерных образцов были найдены режимы СКФ обработки и определены характерные скорости формирования заданной морфологии поверхности и объемной пористости композитных структур в диапазоне $100 \div 500$ мкм (Рис.2), необходимых для эффективной интеграции материала имплантата с регенерирующей костной тканью. Для полиакриловых композитов был исследован процесс сверхкритической экстракции токсичных примесей – метилметакрилат, этилметакрилат, дихлорэтан (для Протакрил-М), приводящей к существенному повышению биосовместимости этих материалов. Результаты экспериментов *in vivo* показали, что интеграция костной ткани с поверхностью исходных полиакрилатов практически отсутствует (Рис.6.а). Признаки частичной костной интеграции были выявлены лишь при использовании композитов, включавших с себя ГАП (Рис.6.б). При этом в период с 15 до 60 суток количество интегрированных с имплантатом костных структур и площадь их контакта с поверхностью имплантатов значительно возрастали (Рис.6.в).

Применение sc-CO_2 кардинально усиливает процесс интеграции имплантата с костной тканью за счет удаления токсичных примесей (снижая интенсивность и продолжительность пост-операционного воспаления в области имплантата), образования развитой поверхности и пористой внутренней структуры. Новообразованные костные трабекулы проникают в поры имплантата и неровности его поверхности, связываясь в них с участками, содержащими ГАП (Рис.6.г).

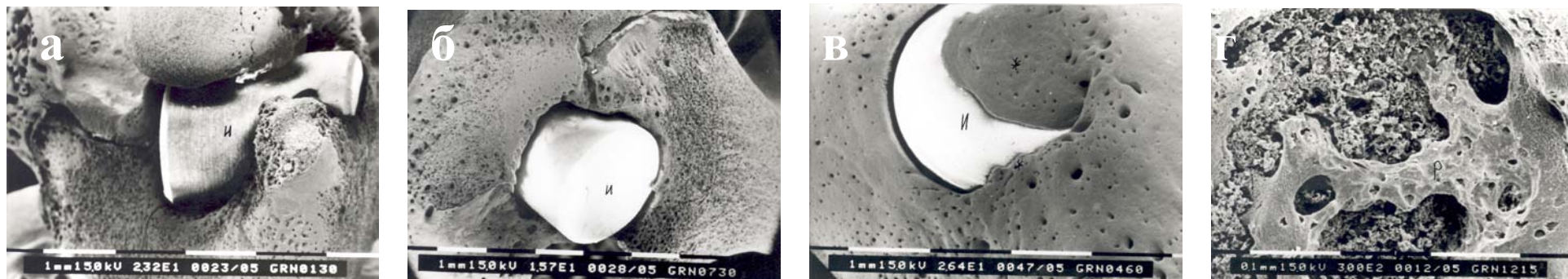


Рис.6. Реакция костной ткани крыс на полиакриловые имплантаты. **а** - интеграция с поверхностью чистого “Этакрила-02” практически отсутствует; **б** – выявляются признаки костной интеграции при использовании композитов, включавших с себя ГАП; **в** - интеграция постепенно усиливается в период с 15 до 60 суток; **г** - СКФ обработка имплантатов повышает эффективность их интеграции с костной тканью, а новообразованные костные трабекулы проникают в поры имплантата, связываясь с участками, содержащими ГАП.

Основным преимуществом второго метода (получение биоактивных и биорезорбируемых композитов непосредственно в ск-СО₂) является совмещение процессов синтеза, экстракции токсичных примесей и формирования пористой структуры полимерных композитов в одном технологическом цикле и на одном оборудовании. Кроме того, прямой синтез имплантата в ск-СО₂ (в отличие от литьевой технологии) не подвергает полимер воздействию высокой температуры и механическим пертурбациям, приводящим к уменьшению его молекулярной массы M_w , уширению его молекулярно-массового распределения M_n и, как следствие, ускорению и не предсказуемости процесса его деградации в живой ткани.

При этом, если требуется получить только сам материал (например, для изготовления матриц для тканевой инженерии), то достаточно просто загрузить в сверхкритический реактор необходимые компоненты (порошки полимера и наполнителя), заполнить его ск-СО₂ и произвести интенсивное перемешивание с последующим регулируемым сбросом давления (для получения необходимой пористости). Если же нужно изготовить имплантат заданной формы, то можно поместить требуемую пресс-форму, заполненную тщательно перемешанной смесью исходных порошков, непосредственно в реактор, либо соединить ее вход с выходом системы инъекции полимерного композита. Образцы биорезорбируемых минерал-полимерных имплантатов и пресс-формы для их получения, представлены на Рис.7.

In vivo тесты минерал-полимерных имплантатов изготовленных с использованием ск-СО₂ продемонстрировали их существенное преимущество (с точки зрения реакции живых тканей и процессов остеоиндукции и остеоинтеграции) по сравнению с монолитными образцами, полученными традиционными методами. Это связано, в первую очередь, с высокой чистотой материала (обусловленной СКФ экстракцией токсичных примесей) и приближенной к реальной костной ткани морфологией поверхности и внутренней структурой этих имплантатов.

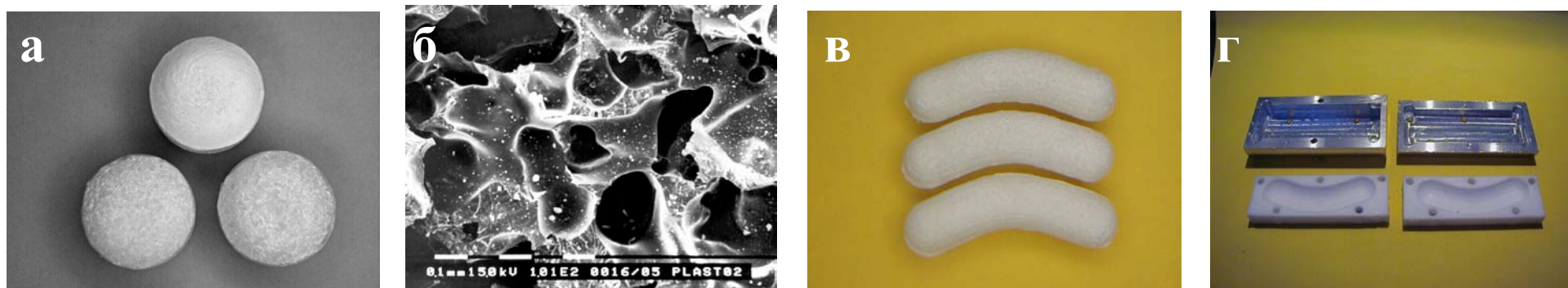


Рис.7. Имплантаты из пористых биорезорбируемых минерал-полимерных (ПЛ/ГАП) композитов синтезированные в ск-СО₂.

а - имплантаты диаметром 20мм толщиной 10мм для пластики дна гайморовой пазухи, **б** – микроструктура имплантатов представленных на Рис.7.а, **в** – имплантаты для замещения дефектов нижней челюсти и **г** - пресс-форма для их изготовления.

Таким образом, нами предложены и разработаны новые методы изготовления биоактивных биостабильных и биоресорбируемых пористых минерал-полимерных композитов для направленной регенерации костных тканей и производства черепно-челюстно-лицевых имплантатов нового поколения. Важно отметить, что некоторые из этих композитов и имплантатов уже сегодня проходят клинические испытания в ряде московских клиник (биостабильный полиакриловый композит “ПолиГАП” [9]) либо находятся на стадии получения разрешений МСРЗ РФ на их клинические испытания (биорезорбируемые композиты на основе ПЛ и ПЛГ). Ценность полученных результатов по использованию этих имплантатов в черепно-челюстно-лицевой хирургии и стоматологии определяется уменьшением вероятности воспалений и различного рода пост-операционных осложнений и ускорением интеграции имплантата с костной тканью. Сокращаются сроки физиологической и психологической реабилитации пациентов, что приводит к повышению качества их жизни.

Литература.

1. Patrick Jr.CW., Mikos A.G., McIntire L.V. *Frontiers in Tissue Engineering*, Elsevier Science, New York, USA, 1998.
2. Hollinger J.O., Brekke J., Gruskin E., Lee D. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **324**, 55-65, 1996.
3. Petite H. *Med.Sci.* , **17**, 128-130, 2001.
4. Saito M., Maruoka A., Mori T., Sugano N., Hino K. *Biomaterials*, **15**,.156-159, 1994.
5. Huang J., Di Silvio L., Wang M., Tanner K.E., Bonfield W. *J.Mater.Sci.: Mater.Medicine*, **8**, 775-779, 1997.
6. McHugh M., Krukoni V.J. *Supercritical fluid extraction*, 2nd Edn., Butterworth Heinemann, Boston, MA, USA, 1994.
7. Howdle S.M., Watson M.S., Whitaker M.J., Popov V.K., Davies M.C., Mandel F.S., Wang J.D., Shakesheff K.M. *Chem.Comm.*, 109-110, 2001.
8. Krasnov A.P., Afonicheva O.V., Popov V.K., Volozhin A.I. *Int.J.Polym. Mater.*, **53**, №1, 1-10, 2004.
9. Топольницкий О.З., Дьякова С.В., Рогинский В.В., Воложин А.И., Попов В.К., Краснов А.П., Иванов А.Л. В сб. “Московский центр детской челюстно-лицевой хирургии: 10 лет - результаты, итоги, выводы”. (под ред. В. Рогинского) – М.: Детстомиздат, 349-362, 2002.