

УДК 619, 661.728, 59.084

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.1.27

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ ИМПЛАНТА НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Т.Е. Миронова^{1,2} - м.н.с., аспирант, В.Ю. Коптев¹ - к.в.н., ст. науч. сотр.,
В.Н. Афонюшкин^{1,2,3} - к.б.н., зав. сектором, А.А. Бехтольд
(¹Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН;
²ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, ³Институт химической биологии и фундаментальной
медицины СО РАН).

Ключевые слова: биосовместимость, бактериальная целлюлоза, имплант, биополимер, лабораторные животные. **Keywords:** biocompatibility, bacterial cellulose, implant, biopolymer, laboratory animals.

РЕФЕРАТ

Настоящая работа посвящена экспериментальному исследованию реакции тканей организма на имплант на основе бактериальной целлюлозы, синтезированной штаммом бактерий *Gluconacetobacter xylinus*. Также изучено влияние внутренней среды организма на характеристики имплантируемого материала для определения перспектив его использования в ветеринарии.

В настоящее время не теряет актуальности вопрос создания новых имплантируемых на длительный срок материалов, либо усовершенствования существующих. На основании этого можно сделать вывод о наличии недостатков у разработанных ранее материалов. К имплантируемым материалам предъявляются определенные требования, такие как эластичность, прочность, пористость, нетоксичность и другие. Наиболее важным свойством таких материалов можно назвать биосовместимость, также устойчивость к воздействиям биологической среды.

Данное исследование направлено на установление возможности использования в качестве имплантируемого материала бактериальной целлюлозы (БЦ), сочетающей в себе все необходимые свойства, предъявляемые к имплантам. Исследование реакции тканей организма на имплант проводили на лабораторных крысах линии Вистар. Имплантируемый материал помещали на наружный слой мышц брюшной стенки лабораторных животных, после чего на 14-е, 30-е и 90-е сутки проводили визуальный осмотр состояния целлюлозы и близлежащих тканей, осуществляли отбор тканей для гистологического исследования.

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что имплант на основе бактериальной целлюлозы не вызывает негативных реакций со стороны близлежащих тканей, не разрушается в течение периода наблюдения и надежно фиксируется на мышечном слое капсулой из коллагеновых волокон.

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос разработки, либо усовершенствования медико-биологических свойств имплантируемых изделий медицинского назначения не теряет своей актуальности. Важное значение имеют характеристики

имплантируемых на длительный срок материалов, а определяющую роль играет именно реактогенность медицинских изделий. К свойствам материалов, обеспечивающим биосовместимость с тканями организма, относят пористость, эластич-

ность и прочность, нетоксичность, гидрофильность, а также устойчивость к воздействиям биологической среды [3,4,8].

В качестве примера материала, обладающего всеми перечисленными ранее характеристиками, определяющими его биосовместимость, можно назвать бактериальную целлюлозу (БЦ) – продукт биосинтеза целлюлозопродуцирующих бактерий. Наиболее распространенным штаммо-продуцентом целлюлозы является *Gluconacetobacter xylinus* [1,2,6,8,9,11]. Данная целлюлоза обладает схожими с целлюлозой растительного происхождения характеристиками, однако в отличие от последней является химически очищенным веществом с уникальными свойствами [1, 8, 10].

Как биоматериал целлюлоза применяется во влажном состоянии, в котором похожа на гель, а по механическим свойствам имеет сходство с мягкими тканями организма [9,11].

На сегодняшний день бактериальная целлюлоза является распространенным биополимером. Имеется большое количество работ зарубежных и отечественных исследователей, посвященных изучению свойств, биосовместимости, применению бактериальной целлюлозы. На основании существующих научных исследований можно сделать вывод, что целлюлоза не подвержена биодеградации внутри организма [8]. Однако, некоторые штаммы бактерий синтезируют целлюлозу, способную постепенно разрушаться в организме. Также, обработка целлюлозы некоторыми веществами способствует биодеградации целлюлозы в условиях биологической среды [5, 7].

Цель данной работы заключалась в экспериментальном исследовании биосовместимости импланта на основе бактериальной целлюлозы, а также изучению влияния внутренней среды организма на характеристики имплантируемого материала для определения перспектив его использования в ветеринарии и медицине.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись им-

планты на основе бактериальной целлюлозы, синтезированные бактериями *Gluconacetobacter xylinus*. Все технологические стадии получения целлюлозы осуществляли согласно авторскому запатентованному способу.

Исследование реакции тканей организма на имплант проводили на лабораторных крысах линии Вистар. В эксперименте принимали участие 9 клинически здоровых самцов крыс массой 200-400г.

Оперативное вмешательство осуществлялось после применения общего наркоза и подготовки операционного поля. Не нарушая правил асептики и антисептики, производили рассечение кожных покровов в районе белой линии брюшной полости. После расслоения подкожной клетчатки методом тупой препаровки оголяли наружный слой мышц брюшной стенки, на который помещали имплант на основе бактериальной целлюлозы площадью 4 см². Имплант фиксировали на наружном слое мышц с помощью шовного материала, после чего кожную рану ушивали прерывистым узловатым швом.

Содержание лабораторных животных в послеоперационный период осуществлялось в общем виварии, где за ними велось наблюдение и проводилась ежедневная обработка операционной раны.

Оценку реакции организма на введение импланта внутрь организма проводили путем систематического мониторинга состояния прооперированных животных и визуального внешнего осмотра места операционного доступа.

Для оценки внешнего состояния импланта и тканей, прилегающих к месту локализации изучаемого материала, а также для отбора образцов для гистологического исследования осуществляли выведение животных из эксперимента по истечению 14, 30 и 90 суток после оперативного вмешательства. Гистологическое исследование тканей проводили по общепринятой методике. Окраску препаратов проводили гематоксилин-эозином, изучали на увеличениях 40х и 100х с помощью микроскопа Zeiss PrimoStar.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

За время проведения эксперименталь-

ного исследования у прооперированных животных не наблюдалось внешних признаков отторжения импланта. У 5-ти крыс в первые 3 дня фиксировали послеоперационный воспалительный отек на месте оперативного доступа, у одной крысы в течение первых двух суток и у 3-х крыс в первые 4 дня отмечали отек после оперативного вмешательства. В дальнейшем внешних признаков воспаления в области оперативного доступа не отмечалось.

При визуальном осмотре импланта на 14 сутки проведения эксперимента не было отмечено каких-либо изменений имплантируемого материала: полупрозрачные гелеподобные пленки с гладкой поверхностью. Признаков деградации бактериальной целлюлозы не отмечалось (рис. 1). выраженной воспалительной реакции близлежащих тканей на имплант не зарегистрировано. 30-е сутки исследования: не отмечались изменения внешнего вида импланта, а также признаки воспалительной реакции со стороны близлежащих тканей.

На 90-е сутки проведения эксперимента отмечалось некоторое помутнение пленок целлюлозы, что говорит о высокой абсорбирующей способности целлюлозы. Отмечается фиксация имплантируемого материала на наружной косой мышце живота, без каких-либо признаков воспаления окружающих тканей и разрушения импланта (рис. 2). Результаты гистологического исследования тканей, отобранных

на 14-е сутки эксперимента: признаки выраженной воспалительной реакции отсутствуют, вокруг импланта сформировалась молодая грануляционная ткань, представленная незрелыми фибробластами, макрофагами и единичными нейтрофилами. На данном сроке начинается формирование межклеточного матрикса. Контакт мышечного слоя с бактериальной целлюлозой умеренно плотный, отмечаются участки неплотного прилегания (рис 3). 30-е сутки эксперимента: отмечается образование вокруг импланта непрерывного слоя грануляционной ткани, контакт с окружающими тканями плотный. Основную массу клеточного состава грануляционной ткани представляют фибробласты. Заметны процессы перехода грануляционной ткани в фиброзную, проявляющиеся наличием четко различимых, равномерно распределенных участков тонковолокнистого строения и зон гомогенного оксифильного межклеточного матрикса (рис. 4). На 90-е сутки опыта заметно образование капсулы, полностью интегрированной в окружающую соединительную ткань. Структура капсулы представлена несколькими слоями коллагеновых волокон, между которыми распределено небольшое количество фиброцитов. Элементы воспалительного инфильтрата отсутствовали (рис. 5). Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что имплант на основе материала из бактериальной цел-



Рис. 1. Внешний вид импланта, находящегося на наружной косой мышце живота; 14-е сутки проведения эксперимента

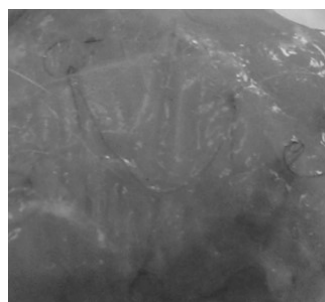


Рис. 2. Внешний вид импланта, находящегося на наружной косой мышце живота; 90-е сутки проведения эксперимента

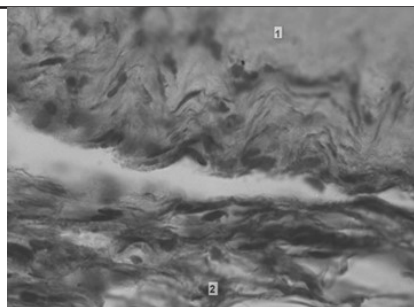


Рис. 3. – Гистологическая картина на 14-е сутки эксперимента: 1 – имплант, 2 – мышечный слой

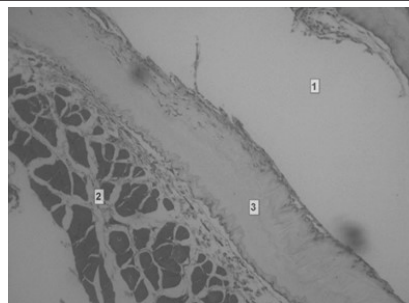


Рис. 4. – Гистологическая картина на 30-е сутки эксперимента: 1 – имплант, 2 – мышечный слой, 3 – слой соединительной ткани

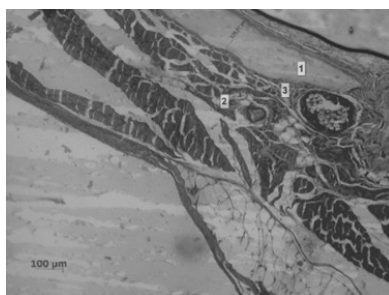


Рис. 5. – Гистологическая картина на 90-е сутки эксперимента: 1 – имплант, 2 – мышечный слой, 3 – слой соединительной ткани

люлозы не вызывает негативных реакций со стороны близлежащих тканей, не разрушается в течение периода наблюдения и надежно фиксируется к мышечному слою капсулой, представленной коллагеновыми волокнами.

ВЫВОДЫ

Исходя из таких особенных характеристик бактериальной целлюлозы как прочность, эластичность, гидрофильность, а также на основании полученных данных о биосовместимости изучаемого материала, можно заключить, что возможная область применения данного биополимера достаточно обширна и позволяет рассуждать о возможности его использования в медицинской и ветеринарной практике, а также в области биотехнологии, для создания новых биополимерных материалов на основе целлюлозы синтезируемой бактериями *Gluconacetobacter xylinus*.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE BI-

OCOMPATIBILITY OF THE IMPLANT BASED ON BACTERIAL CELLULOSE

Mironova T.E.^{1,2} junior scientist, postgraduate, Koptev V.Yu.¹ senior scientist, Afonyushkin V.N.^{1,2,3} Ph.D. of vet. sciences Ph.D. of biol. sciences, A.A. Бехтольд

¹Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences; ²Federal State Educational Institution of Higher Education «Novosibirsk State Agrarian University»; ³Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Division of the Russian Academy of Sciences

ABSTRACT

This work is devoted to an experimental study of the reaction of body tissues to an implant based on bacterial cellulose synthesized by the bacterial strain *Gluconacetobacter xylinus*. The influence of the internal environment of the body on the characteris-

tics of the implanted material was also studied to determine the prospects for its use in veterinary medicine.

Currently, the issue of creating new implantable materials for a long time, or improving existing ones, does not lose its relevance. Based on this, it can be concluded that there are shortcomings in the previously developed materials. Certain requirements are imposed on implantable materials, such as elasticity, strength, porosity, non-toxicity, and others. The most important property of such materials can be called biocompatibility, as well as resistance to the effects of the biological environment.

This study is aimed at establishing the possibility of using bacterial cellulose (BC) as an implantable material, which combines all the necessary properties for implants. The study of the reaction of body tissues to the implant was carried out on laboratory rats of the Wistar line. The implanted material was placed on the outer layer of the muscles of the abdominal wall of laboratory animals, after which, on the 14th, 30th and 90th days, a visual examination of the state of cellulose and nearby tissues was carried out, and tissues were selected for histological examination.

The experimental results indicate that the implant based on bacterial cellulose does not cause negative reactions from nearby tissues, does not collapse during the observation period, and is reliably fixed on the muscle layer by a capsule of collagen fibers.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гладышева Е. К. Биосинтез бактериальной целлюлозы на ферментативном гидролизе технической целлюлозы из плодовых оболочек овса/ Е. К. Гладышева, Е. А. Скиба // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология том. – 2017. Т.-7, №8. С. 140-146.
2. Громовых Т. И., Садыкова В.С., Луценко С.В., Дмитренко А.С., Фельдман Н.Б., Данильчук Т.Н., Каширин В.В. // Прикладная биохимия и микробиология. 2017. Т. 53. № 1. С. 69–75.
3. Коверзанова Е. В. Оценка биосовместимости полимерных материалов для созда-

ния новых эмболизирующих носителей/ Е.В. Коверзанова, С.В. Усачев, К.З. Гумаргалиева и др. // Диагностическая и интервенционная радиология. – 2012. – №1. С 97-102.

4. Фетисов Г.П. Комплексное обеспечение биосовместимости материалов/ Г.П. Фетисов, Ю.П. Гончарова, М.И. Монахова// Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 10: Инновационная деятельность. – 2011. – №5. С 125-133.

5. Azuma, C.; Yasuda, K.; Tanabe, Y.; Taniguro, H.; Kanaya, F.; Nakayama, A.; Chen, Y.M.; Gong, J.P.; Osada, Y. Biodegradation of high-toughness double network hydrogels as potential materials for artificial cartilage. J. Biomed. Mater. Res. Part A 2007, 81, 373–380.

6. Czaja, W., Krystynowicz, A., Bielecki, S., & Brownjr, R. (2006). Microbial cellulose—the natural power to heal wounds. Biomaterials, 27(2), 145–151. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.07.035.

7. Gorgieva, S.; Hribnik, S. Microstructured and Degradable Bacterial Cellulose–Gelatin Composite Membranes: Mineralization Aspects and Biomedical Relevance. Nanomaterials 2019, 9, 303.

8. Klemm, D.; Schumann, D.; Udhardt, U.; Marsch, S. /Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery // Progress in Polymer Science. – 2001. P. 1561–1603. doi:10.1016/S0079-6700(01)00021-1.

9. Petersen, N.; Gatenholm, P. Bacterial cellulose-based materials and medical devices: Current state and perspectives. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2011, 91, 1277–1286.

10. Pigaleva M.A., Bulat M. V., Gromovych T.I., Gavryushina I.A., Lutsenko S. V., Galilyamov M.O., Novikov I.V., Buyanovskaya A.G., Kiselyova O.I. // J. Supercrit. Fluids. 2019. V. 147. P. 59–69.

11. Torres, F., Commeaux, S., & Troncoso, O. (2012). Biocompatibility of Bacterial Cellulose Based Biomaterials. Journal of Functional Biomaterials, 3 (4), 864–878. doi:10.3390/jfb3040864.