

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СОВМЕСТИМОСТИ ИМПЛАНТОВ НА ОСНОВЕ Co-Cr

RESULTS OF THE EXPERIMENT OF STUDYING THE BIOLOGICAL COMPATIBILITY OF IMMANANTS BASED ON Co-Cr

■ **Ботиров Муроджон Тургунбаевич**
Доктор медицинских наук

■ **Botirov Murodzjon Turgunboevich**
Doctor of Medical Sciences

■ **Норматова Шахноза Анваровна**
Доктор медицинских наук

■ **Normatova Shahnoza Anvarovna**
Doctor of Medical Sciences

■ **Лущик Павел Евгеньевич**
Кандидат технических наук

■ **Lushchik Pavel Evgenevich**
Candidate of technical sciences

■ **Мамажонов Маруфjon Мухторович**

■ **Mamazhonov Marufjon Muxtorovich**

■ **Тургунбоева Рахшонхаон**
Муроджон кизи

■ **Turgunboeva Raxshonaxon**
Murodzjon qizi

■ **Central Asian Medical University**

■ **Central Asian Medical University**

■ **Белорусский национальный технический**
университет

■ **Belarusian national technical university**

E-mail: info@camuf.uz

Резюме

В статье представлены результаты анализа свойств сплавов на основе системы Co-Cr для получения биосовместимых изделий медицинского назначения. Разработана методика термической и электрохимической обработки Co-Cr сплавов, обеспечивающей достижение минимальной микронеровности (шероховатости) поверхности стентов, применяемых для изготовления сосудистых имплантатов. А также в микропрепаратах экспериментальных животных было выявлено при гистологическом исследовании инфильтрация, состоящая из лимфоцитов и макрофагов, также тканевая реакция, что обуславливается ответной реакцией организма к инородному телу.

Ключевые слова: сплавы системы Co-Cr, имплантаты, сосудистые стенты, биосовместимость, термическая и электрохимическая обработка, микропрепарат.

The article presents the results of the analysis of the properties of alloys based on the Co-Cr system for obtaining biocompatible medical products. A technique has been developed for thermal and electrochemical treatment of Co-Cr alloys, which ensures the achievement of minimal microroughness (roughness) of the surface of stents used for the manufacture of vascular implants and also in micropreparations of experimental animals, histological examination revealed an infiltration consisting of lymphocytes and macrophages, as well as a tissue reaction, which is due to the body's response to a foreign body.

Key words: alloys of the Co-Cr system, implants, vascular stents, biocompatibility, thermal and electrochemical treatment, micropreparation.

Библиографическая ссылка на статью

Ботиров М.Т., Норматова Ш.А., Лущик П.Е., Мамажонов М.М.,
Тургунбоева Р.М. Результаты эксперимента изучения
биологической совместимости имплантов на основе Co-Cr
// Innova. - 2023. - Т. 9 № 2. - С.20-26.

References to the article

Botirov M.T., Normatova Sh.A., Lushchik P.E.,
Mamazhonov M.M., Turgunboeva R.M. Results of the experiment
of studying the biological compatibility of implants based on Co-
Cr // Innova. - 2023. - V. 9 No. 2. - P.20-26.

Изучение закономерностей структурообразования и механических свойств сплавов на основе кобальта является в настоящее время одним из наиболее динамично развивающихся научных направлений. Актуальность этого научного направления объясняется острой востребованностью сравнительно доступных, коррозионностойких и биосовместимых металлических материалов с высокими показателями механических свойств (прочности и пластичности) для изготовления отечественных изделий медицинского назначения, прежде всего сосудистых имплантатов для коронарной и сосудистой хирургии.

Кобальт-хромовые сплавы являются одними из наиболее широко используемых металлических материалов благодаря уникальному сочетанию вышеуказанных свойств для изготовления имплантатов. Помимо кобальта и хрома, эти сплавы, как правило, содержат легирующие добавки никеля, молибдена и других элементов. Несмотря на хорошие показатели механических свойств и коррозионную стойкость таких сплавов, считается, что при их взаимодействии с биологической средой живого организма в процессе коррозии выделяются токсичные соединения, что, в свою очередь, приводит к образованию раковых опухолей и другим негативным процессам в организме [1-7]. В связи с этим, существует острая потребность в подборе новых и более безопасных составов металлических материалов для изготовления имплантатов, совершенствовании методов их обработки, обеспечивающих более высокую коррозионную стойкость и биосовместимость по сравнению с существующими кобальт-хромовыми сплавами.

Основная научная идея настоящего исследования состоит в изготовления коррозионностойких сосудистых имплантатов с высокими показателями биологической совместимости и механических свойств, путем применения комбинированных схем термической и электрохимической обработки материалов, что позволит повысить качество и эффективность производства отечественных изделий медицинского назначения.

Целью работы являлось исследование

механических свойств медицинских материалов на основе кобальт-хромовых сплавов после термической и электрохимической обработки, для получения биосовместимых изделий медицинского назначения.

Материалы и методы: Для изготовления тестовых образцов сосудистых стентов использовали тонкостенные трубки наружным диаметром до 2 мм и толщиной стенки до 0,13 мм из кобальт-хромового сплава следующего химического состава (в %): Cr 20,9; W 14,8; Ni 10,5; Mn 1,2; Fe 0,63; Si 0,24; C 0,07; Co (основа).

Для исследования было отобрано 20 кроликов-самцов одной породы массой 950-1300 г. За животными наблюдали в течение семи дней до эксперимента, обращая внимание на: внешний вид, поведение, состояние кожи и слизистых оболочек, прирост массы тела, суточный прием пищи и воды. В день начала эксперимента проводили дообследование, взвешивание и рандомизацию животных на группы.

Операцию проводили под местной анестезией. Для обезболивания подкожно вводили местный анестетик новокаин в дозе 5 мг/кг.

Для предупреждения развития инфекций экспериментальным животным один раз в сутки внутримышечно вводили Цефтриаксон — 1,0 (раствор для инъекций 2,5%) в течение 5 дней.

Были взяты образцы из места проведения операции, подготовили микропрепарат и исследовали в Ферганском областном патолого-анатомическом бюро.

Для гистологического исследования срезы имплантированных стентов передней брюшной стенки консервировали в 10% растворе формалина в течение 24 часов. Из полученных гистопрепаратов с помощью микротома вырезали срезы толщиной 2-4 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином по методу Маллори. Ткани анализировали с помощью микроскопа «Оптим» при увеличении x40, x100 и x400.

Результаты и их обсуждение.

Данные материалы подготовлены по результатам исследования совместного узбекско-белорусского научного гранта (MRB-2021-526 от 01.12.2021 г.).

Процесс термической обработки Co-Cr сплавов, применяемых для изготовления

сосудистых имплантатов, осуществляется с использованием вакуумной печи HT-1000, обеспечивающей нагрев в заданном режиме материалов на основе Co-Cr сплавов, применяемых для изготовления сосудистых имплантатов, в вакууме до 10^{-5} бар при температуре до 1180 °C.

Применение вакуумной термической обработки предотвращает окисление и попадание инородных веществ на поверхности материалов во время термического процесса. Управление параметрами термической обработки (температура, давление, время выдержки, скорость нагрева) осуществляется с использованием специализированного компьютерного программного обеспечения.

Проведены испытания тестовых образцов матричных (сосудистых) стентов из Co-Cr сплавов со следующими геометрическими параметрами: длина 35 мм, диаметр трубки 2 мм, толщина стенки 0,13 мм (результаты испытаний представлены на рис. 1-3). Раскрытие стентов происходило на системе доставки Simeks 8x40 на давлении 10 бар.

Электрохимическая обработка (ЭХО) сосудистых имплантатов из сплавов на основе Co-Cr проводится для придания поверхности стентов минимальной шероховатости на установке полирования, задавая установленные параметры обработки: силу тока, количество поворотов/погружений и время выдержки объекта в активной среде.

Параметры процесса ЭХО устанавливались с использованием программного обеспечения. В качестве активной среды для полирования использовали следующий раствор, % (мас.): соляная кислота (HCl) 4%, серная кислота (H₂SO₄) 8%, этиленгликоль (C₂H₄(OH)₂) 88%.

Результаты тестовых испытаний ЭХО с использованием экспериментального стента площадью 123 мм² показали, что при силе тока 0,2А съём материала за единичный цикл обработки составил около 0,95%, и при общем количестве циклов обработки, равном 40, съём материала составил 37%. При этом установлено, что хорошее качество полировки поверхности достигается после 35-37% съёма материала.

Пост-обработка сосудистых имплантатов из Co-Cr сплавов после электрохимической обработки включает выполнение следующих операций:

- промывка в дистиллированной воде с последующей кратковременной обработкой в растворе соды (на 3-5 с) для полной остановки процесса травления остатков кислотного

раствора после ЭХО;

- финишная очистка в дистиллированной воде в УЗ-ванне.

Проведены испытания ЭХО для тестовых образцов сосудистых стентов из Co-Cr сплавов длиной 16,4 мм с разным процентом съёма металла по весу.

Для проведения имплантации подготавливали образцы исследуемых стентов. Доступ к забрюшинному пространству осуществляли по стандартной хирургической методике. На участке забрюшинного пространства в области начала поясничных мышц по брюшной боковой стенке справа формировали карман, куда впоследствии производили имплантацию материала для сосудистого протеза размером 1 см². Карман ушивали монофиламентной не рассасывающейся нитью 6-0, Рану послойно ушивали наглухо. Готовый шов обрабатывали 0,5-0,7 мл 1% раствором бриллиантовой зелени.

При некропсии проводили макроскопическое исследование материала: регистрировали вид и степень проявления обнаруженных реакций ткани, таких как гематомы, отеки, образование рубцов, спаек, фотографировали места имплантации. В дополнение к осмотру участков имплантации обращали внимание на состояние здоровья животного или его реакцию на имплантат.

Для гистологического исследования фрагменты передней брюшной стенки с имплантированными стентами фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине не менее 24 часов. Затем проводили автоматическую проводку в гистологическом вакуумном процессоре KD-NS6B (KEDEE, Китай) и фиксировали парафином. Из каждого объекта с помощью ротационного микротомы готовили серийные срезы толщиной 2-4 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори.

На микропрепарате №1 было отмечено набухание волокон миофибрилл в мышечной ткани, инфильтрат, состоящий из лимфоцитов и макрофагов, неравномерное набухание кровеносных сосудов, в периферических отделах разрастание молодой соединительной ткани.

Микропрепарат №2. В мышечной ткани поперечно-полосатость волокон миофибрилл не нарушено, кровеносные сосуды заполнены неравномерно, в ее периферических отделах разрослась молодая соединительная ткань, имеется отек, инфильтрат, состоящий из лимфоцитов.

Микропрепарат №3. Слои кишечной

стенки деструктивно изменены, слизистая оболочка атрофирована; со стороны серозного слоя стенки отмечается сильный инфильтрат, состоящий из макрофагов, лимфоцитов и эпителиоидных клеток, а также разрастание фиброзной соединительной ткани.

Микропрепарат №4. В мышечной ткани имеется полнота кровеносных сосудов, деструктивные и дистрофические изменения миофибрилл, образование вокруг нее соединительно-тканной капсулы, имеется сильный инфильтрат, состоящий из макрофагов и лимфоцитов.

Микропрепарат №5. Слои кишечной стенки деструктивно изменены, в слизистой оболочке имеется отек, дистрофические изменения; отмечается инфильтрат, состоящий из макрофагов, лимфоцитов и эпителиоидных клеток, гранулемы, состоящие из гигантских клеток и разрастание фиброзной соединительной ткани.

Микропрепарат №6. Слои стенки тонкой кишки деструктивно изменены, имеется отек слизистой оболочки, дистрофические изменения, очаговая гиперплазия эпителиоцитов, сглаженность крипто-ворсинок; отмечается инфильтрат, состоящий из макрофагов, лимфоцитов и эпителиоидных клеток, гранулемы, состоящие из гигантских клеток и разрастание фиброзной соединительной ткани.

Микропрепарат №7. Кровеносные сосуды мышечной ткани полнокровны, часть

миофибрилл деструктивно гипертрофирована, окружена инфильтратом, состоящая из макрофагов и лимфоцитов.

Микропрепарат №8. Слои стенки тонкой кишки деструктивно изменены, отек во всех слоях, отмечается лимфоцитарная инфильтрация в слизистой оболочке, подслизистой оболочке, крипто-ворсинки сохранены, мышечная и серозная оболочки утолщены, развита фиброзная соединительная ткань, имеется инфильтрат, состоящий из макрофагов, лимфоцитов и эпителиоидных клеток.

Во всех группах исследования проводили морфометрическую оценку клеточной и тканевой реакции на имплантацию исследуемых протезов в соответствии с рекомендациями, изложенными в ГОСТ ISO 10993-6-2011. Состав клеток инфильтрата и их количество, непосредственно окружающих волокна протеза, оценивали на микрофотографиях, сделанных в поле зрения (ПЗ) при увеличении микроскопа x400, в не менее чем восьми произвольно выбранных не пересекаемых полях зрения. Количественное значение клеточного состава инфильтрата представлено в виде среднего значения количества клеток в поле зрения при большом увеличении (клеток/ПЗ) и ошибки средней. Показатели полуколичественной оценки приведены ниже в таблице 1.

Таблица 1.

Показатели полуколичественной оценки гистологических препаратов

Исследуемый образец	Срок имплантации 30 дней							
	Исследуемый образец							
Номер животного:	1	2	3	4	5	6	7	8
Воспаление (отёк)	+	+			+	+		+
Лимфоциты	+	+	+	+	+	+	+	+
Полнота кровеносных сосудов				+			+	
Макрофаги	+		+	+	+	+	+	+
Гигантские клетки					+	+		
Мышечная ткань:								
Отёк	+							
Деструктивные изменения				+			+	
Дистрофические изменения				+				
Гипертрофия							+	
Тонкий кишечник								
- Деструктивные изменения стенки			+		+	+		+
- Отёк слизистой оболочки					+	+		+
- Дистрофические изменения								

слизистой оболочки - Инфильтрация			+		+	+		
								+
Тканевая реакция	+	+	+	+	+	+	+	+
Фиброз			+		+	+		+

Таким образом, во всех экспериментальных животных встречается инфильтрация, состоящая из лимфоцитов и макрофагов, также имеется тканевая реакция. Это обуславливается с тем, что при введении стентов на экспериментальные животные отмечается ответная реакция организма к инородному телу. В 62,5% случаях встречается воспаление (отёк) на месте введения имплантата, из-за травмирования прилегающих тканей во время хирургического вмешательства. Также у 50% экспериментальных животных были

выявлены дистрофические и у 75% деструктивные изменения в тканях.

Для гематологическое исследование крови проводили биохимический анализ с помощью биохимического анализатора BS-200 (MINDRAY, Китай). В сыворотке крови определяли креатинин, билирубин, глюкоза, общий белок, мочевины, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) перед внедрением (Таблица 2) и после внедрения стента (Таблица 3).

Таблица 2.

Результаты биохимического анализа крови кроликов перед внедрением стента (21.05.2022 г.)

Тип анализа	Норма	Лабораторные животные							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Креатинин	44,2 – 144,4 ммоль/л	48,1	45,0	47,2	49,5	47,4	46,6	48,0	45,0
Билирубин	3,4 – 8,5 ммоль/л	4,2	4,8	5,2	6,2	5,6	5,9	5,1	6,2
Глюкоза	4,1 – 8,1 ммоль/л	5,2	4,8	5,8	5,9	6,1	5,0	6,1	6,4
Общий белок	54,0 – 72,0 г/л	65,3	68,2	67,2	66,5	68,2	60,1	66,9	66,8
Мочевина	5,3 – 8,6 ммоль/л	5,9	6,5	6,6	7,1	6,7	6,9	6,2	7,2
АЛТ	25,0 – 60,0 Ед/л	31,0	44,0	38,0	48,0	51,0	38,0	28,0	41,0
АСТ	5,0 – 31,0 Ед/л	16,8	15,8	22,4	18,4	20,2	21,6	13,9	19,8

Биохимический анализ образцов крови, взятых у подопытных животных, показывает, что результаты анализа до внедрения стента находятся в пределах нормы, на основании этих результатов можно считать всех животных здоровыми.

Как видно из данных таблицы 3, все показатели содержания крови определялись на

высоком уровне в пределах нормы. Общий белок увеличился больше всего в ответ на стенты. Это объясняется повышенной инфильтрацией, макрофагами и лимфоцитами в проведенных нами гистологических анализах.

Таблица 3.

Результаты биохимического анализа крови кроликов
после внедрения стента (23.06.2022 г.)

Тип анализа	Норма	Лабораторные животные							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Креатенин	44,2 – 144,4 ммоль/л	141	117	143,2	99	110	120	99	117
Билирубин	3,4 – 8,5 ммоль/л	4,2	5,5	6,2	4,2	6,6	7,7	5,1	6,5
Глюкоза	4,1 – 8,1 ммоль/л	6,3	7,8	5,1	5,8	4,9	8,1	5,5	4,8
Общий белок	54,0 – 72,0 г/л	66	63,2	68	72	68	66	70,1	72,8
Мочевина	5,3 – 8,6 ммоль/л	8,1	7	6,7	5,4	7	8,2	5,8	7,7
АЛТ	25,0 – 60,0 Ед/л	32	27	57	30,2	41,9	38	33,2	28
АСТ	5,0 – 31,0 Ед/л	15,8	13,3	28,4	14,6	20,2	18,6	16,8	17,4

Кроме этого, в наших наблюдениях выявлено повышение креатинина. Высокий креатинин - показатель обильной мясной диеты (если повышен в крови и в моче), почечной недостаточности (если повышен только в крови). Уровень креатинина возрастает при обезвоживании организма, поражении мышц, физической нагрузке.

Анализ мочи проводили с помощью стереомикроскопа Optima (Китай). В составе мочи определяли наличие белков, эпителии, лейкоциты, эритроциты, цилиндры, слизи, соли и бактерий. Результаты анализов до и после введения стента в организм животных показал, что в обоих случаях показатели мочи были в норме.

Выводы.

1. Разработана методика термической обработки, обеспечивающей нагрев в заданном режиме материалов на основе Co-Cr сплавов, применяемых для изготовления сосудистых имплантатов, в вакууме до 10^{-5} бар при температуре до 1180 °С.

2. Представлены результаты разработки методики электрохимической обработки Co-Cr сплавов, обеспечивающей достижение минимальной микронеровности (шероховатости) поверхности стентов, применяемых для изготовления сосудистых имплантатов, включая предварительную подготовку, собственно электрохимическая обработку тестовых образцов сосудистых имплантатов и их финишную обработку.

3. Представлены зависимости

радиальной силы, давления и модуля упругости от диаметра сжатия тестовых образцов стентов после электрохимической обработки.

4. При гистологическом исследовании в 62,5% случаях встречается воспаление (отёк) на месте введения имплантата, из-за травмирования прилегающих тканей во время хирургического вмешательства. Также у 50% экспериментальных животных были выявлены дистрофические и у 75% деструктивные изменения в тканях.

5. После введения стента было выявлено, что биохимические показатели крови были повышены, но в пределах нормы. Также результаты анализов мочи до и после введения стента в организм животных показал, что в обоих случаях показатели мочи были в норме.

Литература.

1. Алексеев Ю.Г., Королёв А.Ю., Нисс В.С. Электролитно-плазменное полирование кобальт-хромовых сплавов медицинского назначения // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия физико-технических наук. –2019. –Т. 64. -№ 3. –С. 296–303.

2. Ботиров М.Т., Лущик П.Е., Алексеев Ю.Г., Карабаев М.К., Минченя В.Т., Мамажонов М.М. Эндопротезы на основе NiTi и их биологическая совместимость // Журнал клинической и профилактической медицины. – 2022. –Т.1. - №1. – С. 8-14.

3. Ботиров М.Т., Норматова Ш.А., Мамажонов М.М., Минченя В.Т., Лущик П.Е. Повышение биологической совместимости имплантов на основе Co-Cr // Acta CAMU. -2022. -

№1 (1). -С. 7-14.

4. Минченя В., Алексеев Ю., Ольгомец И. и др. Высокие технологии на службе отечественной медицины // Наука и инновации. – 2018. –№5 (183). –С. 21–23.

5. Нисс В.С., Гавриленко В.В. Разработка технологии получения коронарных стентов лазерной резкой и электрохимической полировкой // Современные технологии для заготовительного производства [Электронный ресурс]: сборник научных работ Республиканской научно-технической конференции профессорско-преподавательского состава, научных

работников, докторантов и аспирантов МТФ БНТУ. -2021 г. –Минск: БНТУ, 2021. –С. 71-74.

6. Mamajonov M.M., Lushchik P.E., Botirov M.T., & Alekseev Y.G. Problems of Increasing the Biocompatibility of Materials Used in Medicine // International Journal of Multicultural and Multireligious Understanding. – 2021. – Т. 8. – №. 7. – С. 419-426.

7. Manivasagam G., Dhinasekaran D., Rajamanickam A. Biomedical Implants: Corrosion and its Prevention - A Review // Recent Patents on Corrosion Science. – 2010. – No. 2. – P. 40–54.