

«Клеточная инженерия»

Курс лекций кафедры фундаментальной медицины и биологии ВолгГМУ
для студентов медико-биологического факультета

Кость



Тема лекции:

«Тканевая реакция на имплантаты».



Имплантация

Имплантация - хирургическая операция вживления в ткани чуждых организму структур и материалов.

- Имплантация в организм любого чужеродного материала, в том числе биологических тканей, вызывает воспалительно-репаративную реакцию, которая является выражением защитной и репаративной функций соединительной ткани.
- Воспалительный процесс в окружающей ткани ведет к пролиферации фибробластов, которые продуцируют коллагеновые волокна и другие компоненты экстрацеллюлярного матрикса.
- Формируется соединительнотканная капсула, изолирующая инородное тело.
- Исключением являются только материалы, подвергающиеся быстрой биодеградации и/или полной макрофагальной резорбции без формирования капсулы.
- Интенсивность воспаления зависит от степени биосовместимости имплантируемых материалов.

Тканевая реакция на имплантат.

Методы исследования

	In vivo	In vitro
+	<p>Учет клинической картины и системного влияния организма</p> <p>Исследования проводятся не только относительно местной реакции тканей на имплантируемый материал в динамике опыта, но и органов, в которых возможно накопление продуктов деструкции.</p>	<ul style="list-style-type: none"> •не дорогостоящие и легко воспроизводимые •возможность получить количественные результаты; •позволяют исключить влияние индивидуальных побочных факторов (измененного кровотока, действия эндокринной системы, иммунной реактивности, сезонных особенностей обмена веществ и др.) •позволяют выделить влияние конкретного фактора на процесс, усиливая или изолируя его действие (биологически активные вещества, различные типы клеток и т.д.)
-	<p>Наблюдается значительный разброс экспериментальных данных, и ощущаются затруднения в их интерпретации. Эксперименты требуют длительного времени и больших материальных затрат. Кроме того, полностью воспроизвести патологические состояния человека на животных практически невозможно.</p>	<p>нельзя учесть многие факторы воздействия биоматериалов на ткани и целостный организм.</p>

Методы исследования in vitro

Изучение реакции клеток (жизнеспособность, высвобождение специфических компонентов, таких как цитокины, факторы роста и др.) на инородный материал.

Количественная оценка местного токсического (гистотоксического) действия биоматериалов. Проводят с помощью культуры клеток фибробластов подкожной клетчатки белых беспородных крыс. Данные клеточные культуры выгодно отличаются от культивируемых клеточных линий, поскольку метаболизм последних существенно отличается от нормальных клеток организма.

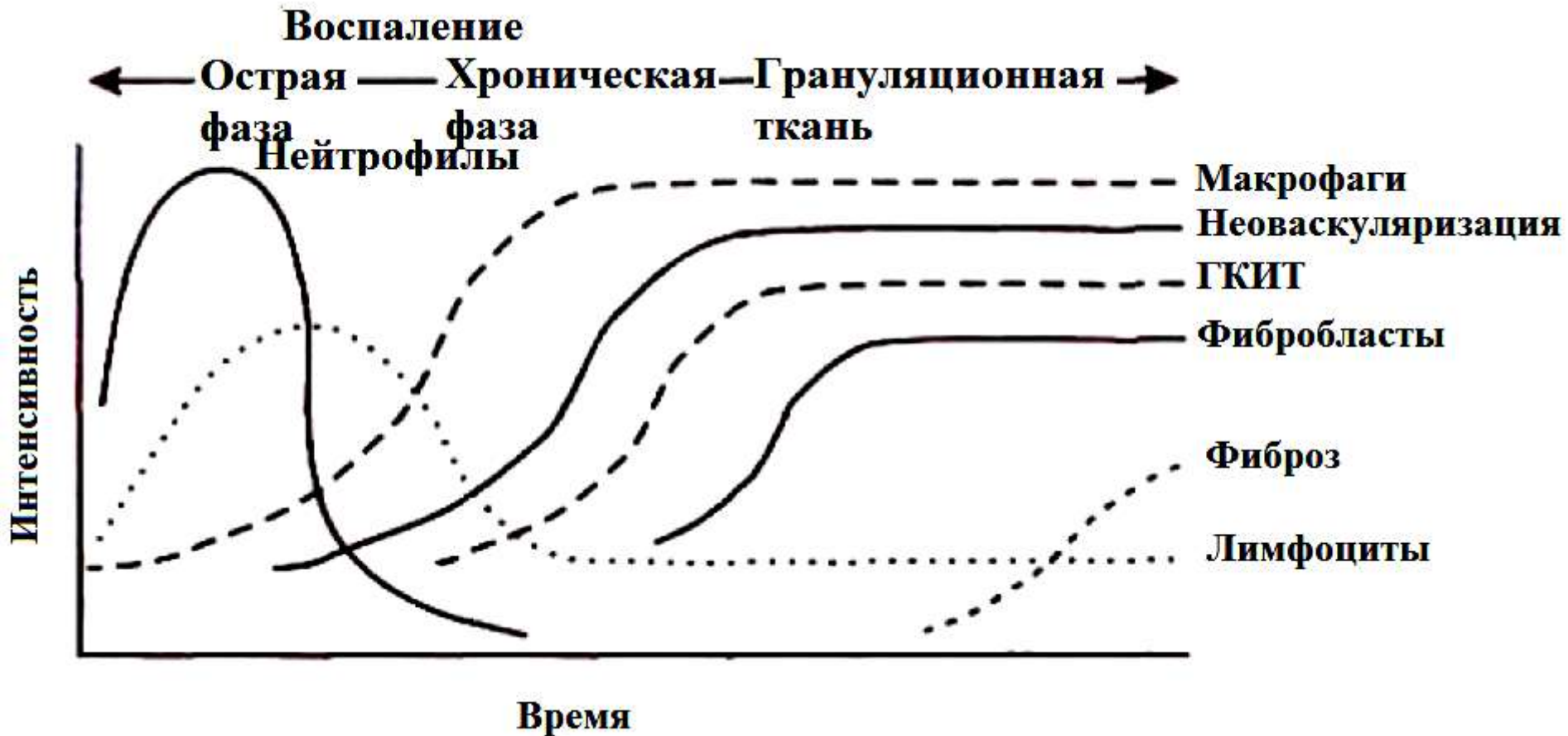
Исследования факторов, влияющих на воспаление. После контакта культуральных клеток с биоматериалом или вытяжкой из него, методом радиоиммунного анализа определяется уровень высвобождаемых медиаторов. Повышение уровня медиаторов в окружающей биоматериал среде приводит к активации или повреждению клеток и сказывается на течении воспалительного процесса.

Методы исследования in vivo

Биоматериал в виде пленок, нитей, губок, пластин, гранул, геля или изделий (например, сосудов, катетеров ит. д.) имплантируются в соответствующие органы и ткани (подкожно, внутримышечно, внутрибрюшинно, в сосуды, а материалы, предназначенные для офтальмологии в область глаза и т.д.) на различные сроки в зависимости от поставленных задач и склонности материала к деструкции.

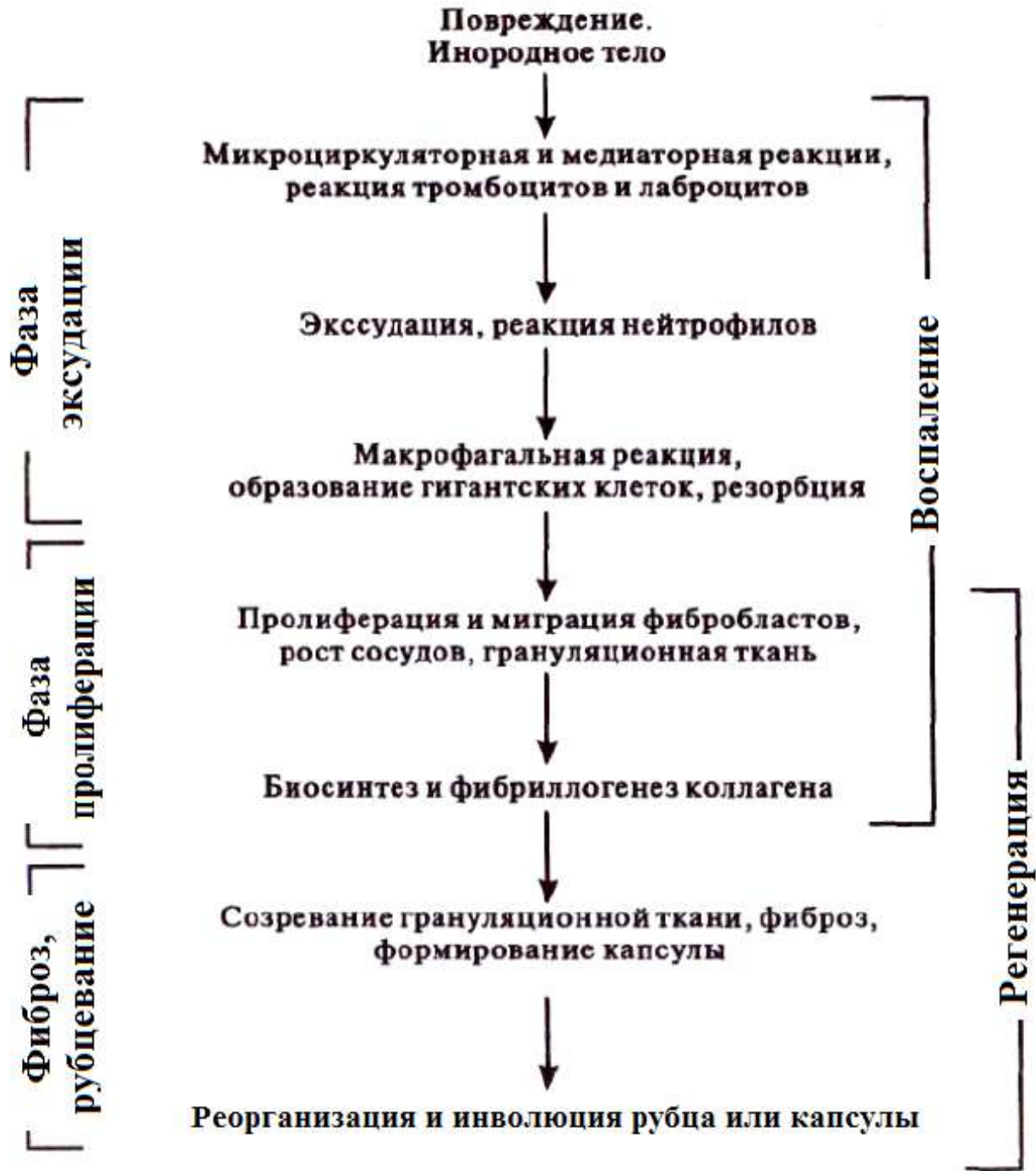
Гистологические, гистохимические и электронно-микроскопические, а также биохимические, иммунологические и др. **исследования проводятся не только относительно местной реакции тканей** на имплантируемый материал в динамике опыта, **но и органов, в которых возможно накопление продуктов деструкции.**

Методы исследования in vivo



Изменение состава клеток со временем на границе раздела биоматериал/ткань при нормальной реакции на инородное тело.

Кинетика воспалительно-репаративной реакции



Фазы воспалительно - репаративной реакции и образование капсулы вокруг имплантатов

Нейтрофильная фаза

Через 1—3 часа от начала воспаления ПЯЛ эмигрируют через стенки капилляров в соединительную ткань, передвигаются по направлению к источнику раздражения и окружают его со всех сторон, образуя через 6-12 часов от начала воспаления ясно выраженный лейкоцитарный вал. Эмиграция нейтрофильных лейкоцитов интенсивно нарастает, и к концу первых суток лейкоцитарный вал достигает максимальной величины

- ✓ в очаге воспаления накапливаются недоокисленные продукты, среди которых, в т.ч. молочная кислота;
- ✓ развивается ацидоз: рН с 7,2 — 7,4 понижается до 7,0 — 6,8;
- ✓ происходит перекисное окисление липидов, появляется холин, активные кислородные радикалы.
- ✓ Под влиянием этих факторов происходит стимуляция образования макрофагов из эмигрировавших из сосудов моноцитов и замена ими нейтрофильных лейкоцитов

Фазы воспалительно - репаративной реакции и образование капсулы вокруг имплантатов

Нейтрофильная фаза

В нейтрофильной фазе воспаления ПЯЛ играют основную роль в межклеточном взаимодействии. Продукты их секреции и распада активируют кроме системы комплемента, также хемотаксис макрофагов, взаимодействуют с IgG и IgA, калликреин-кининовой системой, системой свертывания и фибринолиза, фактором Хагемана, производными арахидоновой кислоты, влияют на бласттрансформацию лимфоцитов, вызывают дегрануляцию тучных клеток.

На межклеточный матрикс нейтрофилы воздействуют путем секреции коллагеназы, эластазы, нейтральных протеаз, кислых гидролаз, катепсинов. Коллаген и продукты его распада (пептиды), в свою очередь, влияют на хемотаксис макрофагов и фибробластов

Значительное высвобождение ферментов наблюдается только при адгезии клеток на поверхность биоматериала. Поэтому локальная концентрация ферментов при воспалительной реакции, протекающей на границе раздела фаз, зависит от площади имплантата

Фазы воспалительно - репаративной реакции и образование капсулы вокруг имплантатов

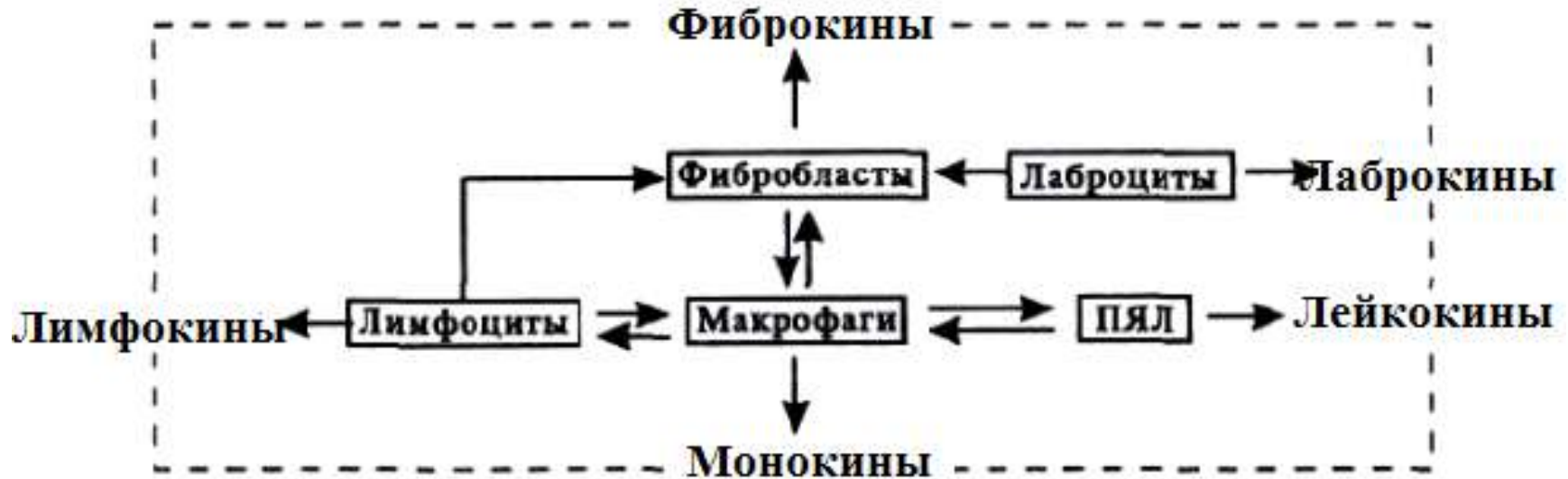
Макрофагическая фаза

Макрофаги движутся к источнику раздражения, внедряются в лейкоцитарный вал, энергично фагоцитируя продукты распада тканей и имплантируемого материала, погибшие клетки и др.

Они отграничивают инородное тело, последовательно формируя нейтрофильно-макрофагальный, макрофагальный и макрофагально-фибробластический барьеры, предшествующие образованию грануляционной ткани.

Фазы воспалительно - репаративной реакции и образование капсулы вокруг имплантатов

Макрофагическая фаза



При адгезии к поверхности биоматериала макрофаги подвергаются процессу активации, который характеризуется морфологическими и цитоплазматическими изменениями, приводящими к взаимодействию комплемента и клеток, к высвобождению внутриклеточных компонентов. Полагают, что макрофаги являются основными клетками, определяющими биосовместимость имплантируемых материалов.

Фазы воспалительно - репаративной реакции и образование капсулы вокруг имплантатов

Фибробластическая фаза

Фибробласты пролиферируют и под влиянием хемотаксических факторов передвигаются к источнику раздражения.

После того, как поле воспаления очищается от дегенерировавших лейкоцитов и других погибших клеток, фибробласты располагаются параллельными рядами вокруг инородного тела.

При их участии вырабатываются коллагеновые волокна, и через 5 — 10 суток от начала воспаления вокруг инородного тела образуется соединительнотканная капсула.

Фазы воспалительно - репаративной реакции и образование капсулы вокруг имплантатов

Фибробластическая фаза

Богато снабженная кровеносными капиллярами, капсула изолирует инородное тело от окружающих тканей.

Вокруг биосовместимых полимерных материалов, образуется тонкая соединительнотканная капсула.

Полимеры, обладающие гистотоксическим действием, покрываются толстой плотной капсулой.

Фазы воспалительно - репаративной реакции и образование капсулы вокруг имплантатов

При имплантации биоактивных материалов формирование капсулы проходит стадию образования грануляционной ткани (на 5 — 10 сутки), когда кроме пролиферации фибробластов происходит активное новообразование капилляров (часто вертикальных петель).

Этому способствует избыточная воспалительная реакция и тканевая гипоксия, усиливающая рост сосудов.

Последующее созревание и фиброзная трансформация грануляционной ткани вызывает регрессию капилляров, контракцию (сокращение) соединительной ткани в связи с накоплением миофибробластов, частичную инволюцию и истончение капсулы.

Характеристика зрелой соединительнотканной капсулы вокруг имплантата

- сравнительно небольшая толщиной, варьирующая в зависимости от химического состава, физической структуры, формы, объема и других параметров имплантата;
- превалирование зрелых фибробластов и фиброцитов над другими остающимися клеточными элементами (лимфоцитами, макрофагами);
- преобладание волокнистых элементов матрикса над клетками;
- продольное (параллельно поверхности имплантата) расположением коллагеновых волокон;
- сравнительно небольшое количество сосудов в капсуле;
- формирование очень узкого макрофагального барьера на границе капсулы и имплантата с включением гигантских клеток.

Эволюция капсулы вокруг биodeградируемых материалов

Биodeградируемые материалы : биодеструктируемые полимеры, коллаген, хитозан, гидроксиапатит и т.д

Первоначальная макрофагальная реакция усиливается, так как макрофаги и гигантские клетки фагоцитируют и резорбируют эти материалы.

В зависимости от степени биodeградации этот процесс может протекать от нескольких дней до нескольких лет и завершиться постепенным замещением имплантата соединительной тканью, которая, в свою очередь, подвергается частичной или полной инволюции.

В результате в месте имплантации остается рубцовая ткань, или исходная ткань полностью восстанавливается.

В других случаях резорбирующийся имплантат служит проводником (кондуктором) для направленной регенерации специализированной ткани(костной, сухожильной и т.д.) на месте ее дефекта.

Неблагоприятное развитие фиброзной капсулы

✓ при неблагоприятном воздействии со стороны имплантата толщина соединительнотканной капсулы, окружающей его, увеличивается. Однако кровоснабжение капсулы при этом остается недостаточным, что вызывает накопление метаболитов биохимических реакций, с появлением которых нередко связывают возникновение опухолей на месте имплантации полимеров;

✓ фиброзная капсула может подвергаться кальцификации. При этом уплотненная капсула вызывает нарушение подлежащих тканей и боль;

Неблагоприятное развитие фиброзной капсулы

- ✓ капсула с недостаточным кровоснабжением способствует инфицированию имплантата. Это происходит вследствие затруднения миграции форменных элементов крови, а также накопления гибнущих клеток;
- ✓ в некоторых случаях, например, при кардиоваскулярном протезировании (клапаны сердца, протезы сосудов, конструкции искусственного сердца), может происходить отделение капсулы от полимерного изделия, что приводит к эмболии
- ✓ при плохом кровоснабжении и недостаточности лимфотока в капсуле или на границе полимер-капсула накапливаются продукты деструкции полимерного имплантата с определенной степенью гистотоксичности, что усиливает хронический воспалительный процесс.

Факторы, влияющие на процесс воспаления и капсулообразования

Факторы определяемые материалом

<i>Химический состав</i>	<i>Физические и физико-химические св-ва материала</i>	<i>Биологические свойства</i>
<ul style="list-style-type: none">✓ Низкомолекулярные примеси✓ Специальные добавки✓ Продукты деструкции	<ul style="list-style-type: none">✓ Морфологические особенности✓ Степень гидрофильности✓ Степень полимеризации✓ Степень сшивки✓ Поверхностный заряд	<ul style="list-style-type: none">Иммунногенность

Факторы, влияющие на процесс воспаления и капсулообразования

Факторы определяемые изделием

- *Дефекты, полученные во время технологического процесса*
- *Конфигурация имплантируемого изделия*
- *Микротрещины, образованные во время эксплуатации*
- *Место имплантации*