

ТЕОРИЯ И КОНСТРУИРОВАНИЕ

В.А. Касьянов, Ф.Д.А.С. Перейра, В.А. Парфенов, Е.В. Кудан,
Е.А. Буланова, Ю.Д. Хесуани, В.А. Миронов

Разработка и имплантация биосовместимого протеза ушной раковины

Аннотация

Пациент-специфический протез ушной раковины из биосовместимого небиodeградируемого полиуретана с биомиметическими механическими свойствами был разработан и напечатан с помощью трехмерного принтера. Исследование механических свойств напечатанных образцов из этого материала на 3-точечный изгиб показало, что напечатанный протез близок по своим материальным свойствам к натуральному ушному хрящу человека.

После имплантации под кожу крысам протез ушной раковины поддерживал свою форму и изначальные размеры. Таким образом, трехмерная печать позволяет создавать пациент-специфические биосовместимые протезы ушной раковины с биомиметическими материальными свойствами и способностью поддерживать изначальную форму и размеры после имплантации *in vivo*.

Введение

Разработка оптимального метода лечения микротии, или врожденного дефекта развития наружного уха, когда ушная раковина либо недоразвита либо совсем отсутствует, является актуальной и до сих пор адекватно не решенной проблемой пластической хирургии. Три основных существующих метода лечения включают в себя использование наружного протеза, реконструкцию ушной раковины из аутологичного реберного хряща и использование синтетических имплантов [1], [2]. Золотым стандартом является реконструкция ушной раковины из аутологичного реберного хряща, но это чрезвычайно инвазивная хирургическая технология, приводящая иногда к дефектам грудной клетки и не всегда гарантирующая желаемый эстетический эффект. Коммерческие импланты из порозного полиэтилена («Porex», США), разрешенные к клиническому использованию, очень жесткие и часто вызывают повреждение и деформацию покрывающей их кожи с последующей ее истончением и пенетрацией [1], [2].

Новый перспективный тканево-инженерный подход с использованием синтетических биодеградируемых каркасов, несмотря на интенсивное разработку в течение последних двух десятилетий, пока не привел к разработке клинически приемлемой технологии. Проблема заключается в том, что тканево-инженерный хрящ ушной раковины должен иметь уникальные механические свойства и быть, с одной стороны, достаточно гибким, чтобы пациент мог безопасно спать на стороне имплантированного ушного протеза и при этом не вызывать повреждений покрывающей имплант кожи, а с другой стороны, он должен быть достаточно жестким, чтобы противостоять контрактивным деформационным эффектам окружающей имплант соединительной ткани и кожи [1], [2]. Кроме того, тканево-инженерные конструкции сами по себе достаточно дорогие и их клиническое внедрение затягивает-

ся иногда на десятки лет. Определенные попытки оптимизировать существующие разрешенные к использованию в клинике коммерческие импланты из порозного полиэтилена («Porex», США) с помощью методов тканевой инженерии, однако, не только не улучшают их субоптимальные механические свойства, но и существенно повышают их стоимость [3]. В такой ситуации бесклеточные импланты, напечатанные из небиodeградируемого полиуретана с биомиметическими материальными свойствами и хорошей биосовместимостью [4], могут быть клинически и экономически более приемлемой альтернативой. Более того, бурно развивающаяся технология трехмерной печати открывает большие возможности для фабрикации пациент-специфических биосовместимых имплантов ушной раковины с биомиметическими материальными свойствами и их способностью поддерживать изначальную форму и размеры импланта ушной раковины после имплантации и таким образом обеспечивать желаемый косметический эффект [5]-[8].

Задачей проведенного исследования была разработка пациент-специфического биосовместимого полиуретанового импланта ушной раковины с биомиметическими материальными свойствами и способностью поддерживать изначальную форму и размеры после имплантации, его фабрикации методом трехмерной печати и тестирование *in vivo*. В качестве позитивного контроля использовались опубликованные данные о материальных свойствах натурального хряща ушной раковины человека [9], а в качестве негативного контроля – коммерческий порозный полиэтилен («Porex», США) с субоптимальными механическими свойствами.

Материалы и методы

Биосовместимый [4] небиodeградируемый полиуретан (EG-85A, «Lubrizol», США), разрешенный для клинического использования, был любезно подарен профессором Сюдженом

Веном (США). Образцы порозного полиэтилена были получены от коммерческой компании («Porex», США).

Сканирование ушной раковины проводилось с помощью лазерного сканера («HandySCAN EXAscан», «CREAFORM», США). Полученное трехмерное изображение наружной ушной раковины волонтера было переведено в STL-формат, удобный для трехмерной печати с помощью компьютерной программы открытого доступа *Invesalious*, разработанной в Центре информационных технологий имени Рената Арчера (Кампинас, Бразилия) (<http://svn.softwarepublico.gov.br/trac/invesalious>).

Тестовые образцы размером 40 x 10 x 5 мм и протезы ушной раковины различной степени порозности (крупнопорозные, мелкопорозные и непорозные) были напечатаны из небiodeградируемого полиуретана на трехмерном биопринтере («Wanhao Duplicator i3», Китай).

Механическое тестирование напечатанных тестовых образцов полиуретана различной степени порозности и образцов коммерческого порозного полиэтилена («Porex», США) проводили стандартным методом 3-точечного изгиба с последующим определением модуля упругости при изгибе («Zwick-Roell BDO-FB0.5TS Test System», Германия). Установка была снабжена датчиком силы 50 Н. Расстояние между опорами при изгибе образцов было 30 мм, образцы деформировались со скоростью 5 мм/мин. Модуль упругости материала при изгибе для каждого образца рассчитывался на основе программы TestExpert, Version 11.02 software, Германия.

Для сканирующей электронной микроскопии образцы напылялись золотом на установке ионного напыления IB-3 («EIKO», Япония). Напыленные образцы изучались под сканирующим электронным микроскопом JSM -6510 LV («JEOL», Япония).

Подкожную имплантацию ушных протезов крысам осуществляли под обезболиванием в стерильных условиях. Ушные протезы стерилизовали с помощью 96%-го спирта. Размеры имплантов измеряли сразу после имплантации и через три месяца после имплантации. Шесть шестимесячных крыс самцов были использованы в экспериментах. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программ *Anova* для анализа статистических данных, разработанных Национальным институтом здоровья, США.

Результаты

Ушная раковина волонтера (рис. 1а) была отсканирована с помощью лазерного сканера, и полученное трехмерное

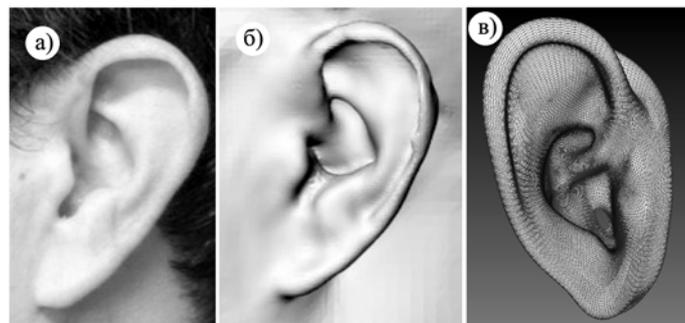


Рис. 1. Дизайн пациент-специфического импланта ушной раковины: а) ушная раковина волонтера; б) отсканированное изображение ушной раковины волонтера; в) протез ушной раковины в STL-формате

изображение (рис. 1б) было переведено в STL-формат (рис. 1в), удобный для трехмерной биопечати с помощью компьютерной программы *Invesalious* открытого доступа, разработанной в отделе трехмерных технологий Центра информационных технологий (Кампинас, Бразилия) (<http://svn.softwarepublico.gov.br/trac/invesalious>).

Тестовые образцы из полиуретана были напечатаны с разным уровнем порозности для механического тестирования методом трехточечного изгиба размером 40 x 10 x 5 мм. Сканирующая электронная микроскопия мелкопорозного образца с оптимальной внутренней геометрией представлена на рис. 2.

Механические свойства (модуль упругости при изгибе) образцов ушного хряща человека [9], трех вариантов напечатанных образцов из полиуретана с различной степенью порозности и коммерческих образцов порозного полиэтилена («Porex», США) были определены методом 3-точечного изгиба (табл. 1).

Результаты показали, что наиболее близкий к натуральному ушному хрящу человека [9] модуль упругости при изгибе у напечатанного мелкопорозного образца полиуретана: $(4,6 \pm 2,28)$ и $(3,68 \pm 0,13)$ МПа соответственно.

В то же время напечатанные образцы непорозного полиуретана, так же как образцы коммерческого порозного полиэтилена, являются более жесткими по сравнению с натуральным ушным хрящем.

Протезы ушной раковины были напечатаны из полиуретана с различным уровнем порозности (рис. 3).

Протезы ушной раковины с определенными оптимальными биомиметическими материальными свойствами были пересажены под кожу крысам. Было показано, что через три месяца имплантированные протезы ушной раковины поддерживают изначальную форму и размеры (рис. 4).

Также не было зарегистрировано пенетрации кожи имплантированным протезом ушной раковины и воспалительных реакций. Измерения линейных размеров протезов ушной раковины до имплантации $[(30 \pm 1,7) \text{ мм}]$ и через три месяца после имплантации $[(30 \pm 2,5) \text{ мм}]$ не позволили обнаружить статистически достоверных отличий.

Заключение

Пациент-специфический протез ушной раковины был разработан, напечатан и протестирован путем имплантации *in vivo*. В качестве биоматериала был использован биосовместимый небiodeградируемый полиуретан, уже разрешенный в США к

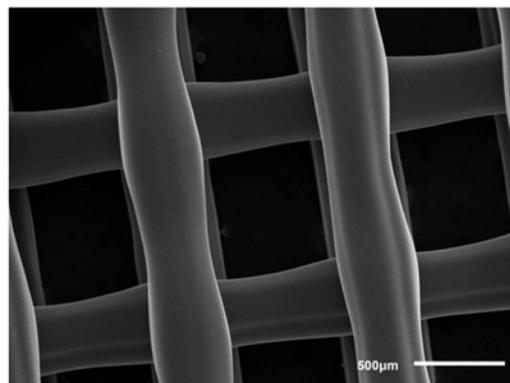


Рис. 2. Сканирующая электронная микроскопия внутренней геометрии мелкопорозного протеза ушной раковины с оптимальной геометрической структурой

Таблица 1

Модуль упругости при изгибе для различных материалов

Материал	Ушной хрящ человека [9]	Крупнопорозный полиуретан	Мелкопорозный полиуретан	Непорозный полиуретан	Порозный полиэтилен («Porex», США)
Модуль упругости при изгибе, МПа	$4,6 \pm 2,28$	$2,14 \pm 0,32$	$3,68 \pm 0,13$	$24,65 \pm 1,48$	$58,26 \pm 2,36$

клиническому применению. Новизна проведенного исследования включает в себя три основных момента. Во-первых, наружная форма протеза точно соответствует форме наружного уха пациента, что было достигнуто использованием лазерного сканера и последующей обработкой полученного изображения с помощью компьютерной программы. При этом важно отметить, что лазерное сканирование позволяет получить трехмерное изображение наружного уха и, что особенно важно (в отличие от других методов получения клинического изображения наружной раковины уха человека), совершенно безвредно для больного. Во-вторых, внутренняя геометрия напечатанного протеза ушной раковины была подобрана таким образом, что механические свойства (модуль упругости при изгибе) протеза ушной раковины полностью соответствовали свойствам натурального хряща наружной ушной раковины человека. В-третьих, имплантация напечатанного на трехмерном биопринтере протеза ушной раковины под кожу экспериментальным животным (крысам) показала, что имплант способен поддерживать свою изначальную форму и размеры в течение по крайней мере трех месяцев.

Таким образом, разработанный пациент-специфический протез ушной раковины обладает одновременно оптимальной биомиметической механической гибкостью и способностью поддерживать свою форму после имплантации, что обеспечивает желаемый долговременный эстетический эффект. Важно заметить, что главными преимуществами бесклеточных имплантов и протезов, напечатанных из биосовместимых биоматериалов, являются их относительно низкая себестоимость, а также возможность быстрого клинического внедрения и коммерциализации [11].

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 15-15-00173).

Список литературы:

1. Otto I.A., Melchels F.P., Zhao X., Randolph M.A., Kon M., Breugem C.C., Malda J. Auricular reconstruction using biofabrication-based tissue engineering strategies // *Biofabrication*. 2015 Jul. Vol. 22. № 7 (3).
2. Bichara D.A., O'Sullivan N.A., Pomerantseva I., Zhao X., Sundback C.A., Vacanti J.P., Randolph M.A. The tissue-engineered auricle: Past, present, and future // *Tissue Eng Part B Rev*. 2012 Feb. Vol. 18 (1). PP. 51-61.
3. O'Sullivan N.A., Kobayashi S., Ranka M.P., Zaleski K.L., Yaremchuk M.J., Bonassar L.J., Randolph M.A. // *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 2015 Jul. Vol. 103 (5). PP. 983-991.

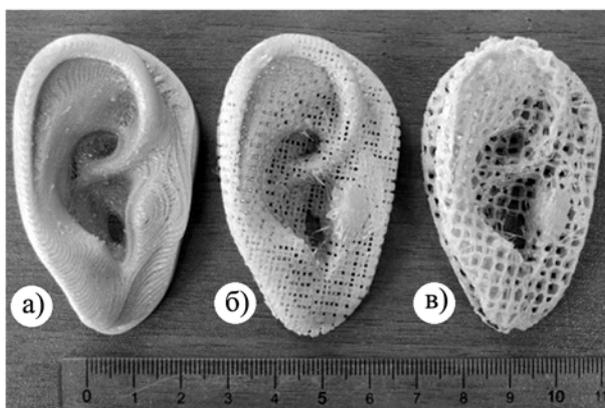


Рис. 3. Напечатанные полиуретановые протезы ушной раковины с различной степенью порозности: а) непорозный полиуретан; б) мелкопорозный полиуретан; в) крупнопорозный полиуретан

4. Beachley V., Kasyanov V., Nagy-Mehesz A., Norris R., Ozolanta I., Kalejs M., Stradins P., Baptista L., da Silva K., Grainjero J., Wen X., Mironov V. // *J. Tissue Eng*. 2014 Nov. Vol. 6.
5. Lee J.S., Hong J.M., Jung J.W., Shim J.H., Oh J.H., Cho D.W. // *Biofabrication*. 2014 Jun. Vol. 6 (2).
6. Schuurman W., Khristov V., Pot M.W., van Weeren P.R., Dhert W.J., Malda J. // *Biofabrication*. 2011 Jun. Vol. 3 (2).
7. Huang G.S., Tseng C.S., Linju Yen B., Dai L.G., Hsieh P.S., Hsu S.H. // *Eur. Cell Mater*. 2013 Oct. Vol. 13. № 26. PP. 179-194.
8. Schon B.S., Schrobback K., van der Ven M., Stroebel S., Hooper G.J., Woodfield T.B. // *Cell Tissue Res*. 2012 Feb. 1 [Epub ahead of print].
9. Roy R., Kohles S., Zaporozhan V., Peretti G.M., Randolph M.A., Xu J., Bonassar L.J. Analysis of bending behavior of native and engineered auricular and costal cartilage // *J. Biomed. Mater Res*. 2004. Vol. 68A. PP. 597-602.
10. Mehesz A.N., Brown J., Hajdu Z., Beaver W., da Silva J.V., Visconti R.P., Markwald R.R., Mironov V. // *Biofabrication*. 2011 Jun. Vol. 3 (2).
11. Burdick J.A., Mauck R.L., Gorman J.H., Gorman R.C. // *Sci. Transl. Med*. 2013 Mar. Vol. 13. № 5 (176).

Владимир Александрович Касьянов,
д-р техн. наук, профессор,
руководитель лаборатории биомеханики,
Рижский университет им. П. Страдиньша,
ст. научный сотрудник,
Рижский технический университет,
г. Рига, Латвия,
Перейра Фредерико Давид Аленсар ди Сена,
инженер, магистр,
Владислав Александрович Парфенов,
ведущий инженер,
Елизавета Валерьевна Кудан,
ст. научный сотрудник, канд. хим. наук,
Елена Анатольевна Буланова,
канд. биолог. наук,
зав. лабораторией клеточных технологий,
Юсеф Джорджевич Хесуани,
исполнительный директор,
Владимир Александрович Миронов,
канд. мед. наук, научный руководитель,
ЧУ «ЗД Биопринтинг Солюшенс»,
г. Москва,
e-мэйл: kasyanov@latnet.lv



Рис. 4. Имплантированный под кожу крысы напечатанный полиуретановый протез ушной раковины