

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044877**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.09

(51) Int. Cl. *A61L 31/04* (2006.01)
A61L 31/14 (2006.01)

(21) Номер заявки
202000158

(22) Дата подачи заявки
2017.11.30

(54) **СПОСОБ ЛОКАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТКАНИ, ТКАНЕЗАМЕЩАЮЩИЙ АППЛИКАТОР И ПРИМЕНЕНИЕ ПОРИСТОГО ПОЛИТЕТРАФТОРЭТИЛЕНА (ВАРИАНТЫ)**

(43) **2020.09.11**

(56) EP-A1-0194446
US-A1-2014308336
WO-A1-2017120608
RU-C1-2497489

(86) **РСТ/ВУ2017/000018**

(87) **WO 2019/104407 2019.06.06**

(71)(72)(73) Заявитель, изобретатель и патентовладелец:

**ДОСТА АНАТОЛИЙ ДМИТРИЕВИЧ
(ВУ)**

(74) Представитель:
Горячко М.Ш. (ВУ)

(57) Изобретение относится к медицине и может быть использовано в онкологии, а также в нейрохирургии, травматологии, неврологии, реабилитации. Задачей изобретения является создание нового способа локального воздействия на биологические ткани и нового тканезамещающего аппликатора, обеспечивающих как разрушение, так и замещение ткани опухоли восстановленной биологической тканью при отсутствии внешнего воздействия (переменного магнитного поля, нагревания и т.д.). Поставленная задача решена за счет применения пористого политетрафторэтилена в качестве цитостатика. Поставленная задача решена также за счет применения пористого политетрафторэтилена для изготовления тканезамещающего аппликатора, предназначенного для лечения или замещения ткани опухоли. Поставленная задача в способе локального воздействия на биологические ткани, включающем размещение в непосредственном контакте с биологической тканью, подлежащей воздействию, тканезамещающего аппликатора, изготовленного из полимерного материала, решена тем, что в качестве полимерного материала используют пористый политетрафторэтилен.

B1

044877

044877

B1

Изобретение относится к медицине и может быть использовано в онкологии, а также в нейрохирургии, травматологии, неврологии, реабилитации.

Известны способы лечения онкологических заболеваний, при которых интратуморально вводят наночастицы. Например, липосомы - искусственные фосфолипидные двуслойные мембраны, поверхность которых может быть химически модифицирована с целью достижения их сродства к целевым тканям. Так, липосомы, имеющие положительно заряженную поверхность, обладают в 10 раз более сильным сродством к клеткам глиомы крысы, чем магнитолипосомы с нейтральным зарядом [1]. Продемонстрирована эффективность гипертермии с использованием магнитокаатионных липосом, инъецированных в подкожную опухоль, у животных с несколькими типами опухолей, таких как меланома B-16 у мышей, глиома T-9 у крыс, остеосаркома Os 515 у хомячков, плоскоклеточная карцинома VX-7 языка кролика [2, 3, 4, 5] Для достижения полной регрессии опухоли важна многократная экспозиция животных в переменном магнитном поле: таким методом Ито с соавторами удалось добиться в опыте на мышах полной регрессии карциномы молочной железы размером более чем 15 мм [6].

Разрабатываются способы введения в опухоль частиц (предпочтительно наноразмеров), температуру которых можно повысить локально извне с применением магнитных или электромагнитных полей для осуществления прецизионного гипертермического разрушения малигнизированных тканей [7, 8, 9]. Областью их исследования является мезомеханика и диссипации энергии в системах магнитных микрочастиц различной природы (диа- и парамагнитные частицы, в том числе живые клетки, а также феррочастицы), взвешенных в простых и реологически сложных жидкостях и возбуждаемых высокоинтенсивными и высокоградиентными магнитными полями (объемный электромагнитный нагрев диэлектрических материалов за счет поглощения энергии в микрочастицах с магнитным гистерезисом, в частности - обоснование локальной ферромагнитной гипертермии злокачественных опухолей). Так, применение наночастиц $\text{Fe}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ размером 9 нм не сопровождается достижением эффективного повышения температуры под воздействием внешнего магнитного поля в модели меланомы мышей [10]. Таким образом, противоопухолевый эффект зависит от размера, определяется удельной площади поверхности частиц (количество молекул увеличивается с уменьшением их размера, при этом увеличивается площадь поверхности) [11].

Биосовместимость наночастиц зависит от размера, ζ -потенциала в растворе, гидрофобности. Гидрофобные частицы имеют очень небольшое время жизни в кровотоке, поскольку они оперативно выводятся из организма печенью и селезенкой. Если схематично представить пути выведения их из организма, то можно отметить, что когда размер частиц <8 нм, то они выводятся почками; если >200 нм, то печенью, селезенкой; ~ 30 нм - желчными протоками, но аккумулируются в легких, от 30 до 200 нм пассивно аккумулируются в опухолевых очагах, по механизму: "увеличенная проницаемость и удерживание" (EPR-эффект, enhanced permeation and retention). Происходит это из-за повышенного кровоснабжения и пониженного лимфатического дренажа в опухоли. При наличии положительного поверхностного заряда частиц (катионные частицы) в большинстве случаев токсичны и вызывают гемолиз и агрегацию эритроцитов [12].

Эффективность такого лечения невысока и потому, что указанные частицы, в силу активного кровотока в области опухоли, быстро выносятся из нее током крови. Однако, поскольку указанные наночастицы остаются в организме, остро стоит проблема вывода наночастиц из организма вообще.

Свойствами наноматериалов является способность к самосборке и самоорганизации. Возникновение упорядочения при самосборке регулируется конкуренцией различных сил взаимодействия молекулярной природы: гидрофильные-гидрофобные взаимодействия, силы гравитации, ван-дер-ваальсовы или кулоновские взаимодействия. В процессе образования упорядоченной надмолекулярной структуры или среды в практически неизменном виде принимают участие только компоненты исходной структуры, аддитивно составляющие или "собирающие" как части целого результирующую сложную структуру. Самоорганизация может быть использована как механизм создания сложных "шаблонов", процессов и структур на более высоком иерархическом уровне организации, чем тот, что наблюдался в исходной системе, за счет многочисленных и многовариантных взаимодействий компонент на низких уровнях, на которых существуют свои, локальные, законы взаимодействия, отличные от коллективных законов поведения самой упорядочивающейся системы. Итогом конформаций наночастиц в живом организме являются многочисленные функциональные сдвиги, среди которых доминирует токсический эффект. Именно токсичность наночастиц ограничивает широкое их внедрение в сферы диагностики и терапии, кстати, при периодическом замалчивании этого неоспоримого факта.

В силу своих свойств наночастицы стремятся объединиться и образуют в выводящей системе (в кровеносных и/или лимфатических сосудах) конгломераты микрометровых размеров.

Наиболее близкие как к заявленному способу, так и к заявленному тканезамещающему аппликатору технические решения описаны в [13], в котором способ локального воздействия на биологические ткани включает в себя этап размещения тканезамещающего аппликатора, изготовленного из полимерного материала с добавлением электропроводных ферромагнитных частиц размером 200-1000 мкм, в непосредственном контакте с биологической тканью, подлежащей воздействию. Далее осуществляют индукционный нагрев тканезамещающего аппликатора и прилегающих биологических тканей в переменном магнит-

ном поле высокой частоты с целью создания гипертермического эффекта, предназначенного для разрушения опухолевой ткани.

Недостатками данных технических решений являются, во-первых, то, что при нагреве опухолевых клеток, они разрушаются с возможным распространением опухолевых агентов в прилежащие ткани.

Кроме того, распад опухолевой ткани вызывает повышение концентрации токсичных веществ, удаление которых является сложной задачей. Для уменьшения токсической нагрузки стараются минимизировать область воздействия, рассчитывают объем ткани, подлежащей разрушению, с учетом выделительной способности лимфатической и кровеносной систем, как на уровне клеток, так и на уровне органов (почек и печени). При возможности, разрушенные ткани стараются удалить, например, промыванием.

Еще одним недостатком способа является сложность аппаратуры, необходимой для его осуществления.

Задачей заявленной группы изобретений является создание нового способа локального воздействия на биологические ткани и нового тканезамещающего аппликатора, обеспечивающих как разрушение так и замещение ткани опухоли восстановленной биологической тканью при отсутствии внешнего воздействия (переменного магнитного поля, нагревания и т.д.).

Поставленная задача в способе локального воздействия на биологические ткани, включающем размещение в непосредственном контакте с биологической тканью, подлежащей воздействию, тканезамещающего аппликатора, изготовленного из полимерного материала, решена тем, что в качестве полимерного материала используют пористый политетрафторэтилен.

В рамках данного способа возможно подвергать воздействию как биологическую ткань, являющуюся тканью опухоли, так и биологическую ткань, окружающую удаленную опухоль.

Поставленная задача в тканезамещающем аппликаторе для размещения в непосредственном контакте с тканью опухоли, подлежащей воздействию, изготовленном из полимерного материала, решена тем, что, он выполнен из пористого политетрафторэтилена.

Авторы, в процессе поиска возможности ограничить вынос наночастиц из опухоли, выбрали в качестве полимерного материала - носителя электропроводных ферромагнитных наночастиц пористый политетрафторэтилен (далее ПТФЭ), рассчитывая на то, что ткани опухоли будут прорастать в поры ПТФЭ, удерживая указанные частицы около себя и препятствуя их выносу с током крови. Однако, в процессе этих исследований были обнаружены цитостатические свойства пористого ПТФЭ.

Таким образом, поставленная задача решена за счет применения пористого политетрафторэтилена в качестве цитостатика.

Поставленная задача решена также за счет применения пористого политетрафторэтилена для изготовления тканезамещающего аппликатора, предназначенного для лечения или замещения ткани опухоли.

Настоящее изобретение представлено в виде примера на следующих неограничивающих чертежах.

На фиг. 1 представлено схематичное изображение заявленного тканезамещающего аппликатора.

На фиг. 2-3 представлены результаты исследования *in vitro* воздействия пористого ПТФЭ на культуру клеток опухоли (в данном примере - глиомы).

На фиг. 4-5 представлены результаты исследования *in vitro* воздействия пористого ПТФЭ на культуру здоровых клеток (в данном примере - фибробластов).

На фиг. 6-8 представлены изображения срезов сенсомоторной области коры головного мозга крыс-самцов линии Вистар через 30 суток после начала исследования: а) - изображения срезов сенсомоторной области коры головного мозга крыс-самцов линии Вистар через 30 суток после ксенотрансплантации клеток глиомы, б) - изображения срезов сенсомоторной области коры головного мозга крыс-самцов линии Вистар через 30 суток после трансплантации пористого ПТФЭ в непосредственном контакте с ксенотрансплантированными клетками глиомы, в) - изображения срезов сенсомоторной области коры головного мозга крыс-самцов линии Вистар через 30 суток после трансплантации пористого ПТФЭ.

На фиг. 9-10 представлены изображения срезов сенсомоторной области коры головного мозга крыс-самцов линии Вистар через 4 месяца после начала исследования: а) изображения срезов сенсомоторной области коры головного мозга крыс-самцов линии Вистар через 4 месяца после трансплантации пористого ПТФЭ в непосредственном контакте с ксенотрансплантированными клетками глиомы, б) изображения срезов сенсомоторной области коры головного мозга крыс-самцов линии Вистар через 4 месяца после трансплантации пористого ПТФЭ.

Заявленный тканезамещающий аппликатор 1 (см. фиг. 1) может быть изготовлен способом, например, описанным в [14]. Тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЭ изготавливают путем смешивания гранул исходного материала с гранулами порообразователя (поваренной соли), прессования полученной смеси, вымывания поваренной соли из полученной пористой заготовки и ее последующего спекания. Сложная структура пор обеспечивается, в данном случае, оскольчатой формой гранул порообразователя. Размеры тупиковых пор определяются размерами зерен мелкой фракции порообразователя, а размеры открытых пор - размерами зерен крупной фракции порообразователя.

Для проверки реализуемости и эффективности заявленного способа, тканезамещающего аппликатора и применения ПТФЭ были проведены испытания на животных, представленные в примерах, приве-

денных ниже.

Пример 1.

Для определения цитотоксичности пористого ПТФЕ для опухолевых и здоровых клеток были проведены две серии исследований *in vitro*.

Первая серия:

в культуральную среду были внесены клетки опухоли, в данном исследовании - глиомы С6, одна из сред была оставлена интактной, в другую был помещен тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЕ.

Через 48 ч наблюдения были выполнены следующие фотографии:

распределения интактных клеток глиомы С6 (фиг. 2а, конfluence 70±3%) и распределения клеток глиомы С6 после размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ (фиг. 2б, конfluence 20±4%);

монослоя интактных клеток глиомы С6, окраска трипановым синим (фиг. 3а, жизнеспособность интактных клеток глиомы С6 составила 90±3%) и монослоя клеток глиомы С6 с тканезамещающим аппликатором из пористого ПТФЕ (фиг. 3б, жизнеспособность клеток глиомы С6 с тканезамещающим аппликатором из пористого ПТФЕ составила 55±3%).

Таким образом, в ходе данной серии исследований установлено, что пористый ПТФЕ проявляет цитотоксичность *in vitro* в отношении опухолевых клеток культуры глиомы С6.

Вторая серия:

в культуральную среду были внесены здоровые клетки, в данном исследовании - фибробласты, одна из сред была оставлена интактной, в другую был помещен тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЕ.

Через 48 ч наблюдения были выполнены следующие фотографии:

распределения интактных фибробластов (фиг. 4а, конfluence 53±3%) и распределения фибробластов после размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ (фиг. 4б, конfluence 35±4%);

монослоя интактных фибробластов, окраска трипановым синим (фиг. 5а, жизнеспособность интактных фибробластов составила 99±3%) и монослоя фибробластов с тканезамещающим аппликатором из пористого ПТФЕ (фиг. 5б, жизнеспособность фибробластов с тканезамещающим аппликатором из пористого ПТФЕ составила 98±3%).

Таким образом, в ходе данной серии исследований установлено, что пористый ПТФЕ не проявляет цитотоксичность *in vitro* в отношении нормальных клеток, в частности, фибробластов.

Пример 2.

Объектом исследования *in vivo* являлась кора головного мозга крыс линии Вистар, которые были разделены на 3 группы: 1 группа - крысы, которым на 1 месяц (30 суток) в область сенсомоторной коры были размещены ксенографты глиомы С6, 2 группа - крысы, которым на 1 месяц (30 суток) в область сенсомоторной коры были размещены ксенографты глиомы С6 и тканезамещающие аппликаторы из пористого ПТФЕ, 3 группа - крысы, которым на 1 месяц (30 суток) в область сенсомоторной коры были размещены тканезамещающие аппликаторы из пористого ПТФЕ.

Работа выполнена при помощи гистологического (окраска гематоксилином и эозином), нейрогистологического (окраска по Нисслю) и гистохимических методов исследования (выявление активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ)).

Криостатные срезы ткани головного мозга крыс линии Вистар окрашивали гематоксилином и эозином и толуидиновым синим, затем изучали на светооптическом уровне.

На фиг. 6а показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 30 суток после размещения ксенографта глиомы С6.

Глиома С6 состоит из мелких недифференцированных клеток с плотными полиморфными ядрами. В толще глиальной ткани выявляются сосуды. Окраска гематоксилином и эозином $\times 200$.

Гистологический анализ поперечных срезов головного мозга крыс с экспериментальной глиомой С6 через 1 месяц выявил наличие многочисленных опухолевых клеток с умеренно выраженным клеточным полиморфизмом. Клетки имеют вытянутую веретенообразную форму, крупные темные гиперхромные ядра неправильной формы, тонкий слабо окрашенный слой цитоплазмы и короткие отростки. Часто встречаются митозы и очаги вакуолизации. В толще клеточных скоплений выявляются сосуды разной величины, а также новообразованные мелкие капилляры.

На фиг. 6б показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 1 месяц после размещения ксенографта глиомы С6 и тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ.

Тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЕ в толще опухоли. Вокруг него отмечается незначительный реактивный отек глии, скопления мелких недифференцированных опухолевых клеток. Тканезамещающий аппликатор заключен в глиальную капсулу. Окраска гематоксилином и эозином $\times 200$.

Гистологический анализ поперечных срезов головного мозга крыс с экспериментальной глиомой С6 и введенным тканезамещающим аппликатором через 1 месяц выявил формирование вокруг синтети-

ческого материала глиомезодермальной капсулы, а в прилежащих областях - прозрачных полей, которые можно рассматривать как очаги распада опухоли, окруженные скоплениями малодифференцированных клеток - "псевдопалисада".

На фиг. 6в показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 1 месяц после размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ.

Тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЕ, имплантированный в серое вещество головного мозга. Окраска гематоксилином и эозином x200.

В области тканезамещающего аппликатора выявлено формирование нежного рубца, состоящего из рыхлой глиомезодермальной ткани, волокна которой прорастают в поры материала, и глиальной капсулы, окружающей тканезамещающий аппликатор. На некоторых участках поверхности имплантируемого материала капсула истончается вследствие формирования в прилежащих участках коры мозга очагов просветления, которые следует рассматривать как зоны реактивного отека. Здесь же выявляются скопления фибробластов и глиальных клеток.

Криостатные срезы ткани головного мозга крыс линии Вистар окрашивали по Нисслию, затем изучали для выявления элементов нервной ткани, x100.

На фиг. 7а показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 30 суток после размещения ксенографта глиомы С6.

Глиома С6 в сером веществе головного мозга.

На фиг. 7б показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 1 месяц после размещения ксенографта глиомы С6б и тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ.

Тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЕ в толще опухоли. Умеренный реактивный отек глии, окружающей тканезамещающий аппликатор; скопления мелких полиморфных опухолевых клеток.

На фиг. 7в показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 1 месяц после размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ.

Синтетический материал ПТФЕ в сером веществе головного мозга. Активация клеток глии в области тканезамещающего аппликатора. Умеренный реактивный отек глии вокруг тканезамещающего аппликатора.

На фиг. 8а показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 30 суток после размещения ксенографта глиомы С6.

АХЭ-положительные нервные волокна в толще опухоли x400.

Глиома С6 представлена мелкими недифференцированными клетками с плотными полиморфными ядрами. В толще глиальной ткани выявляются сосуды. Это свидетельствует об активации протекания опухолевого процесса. По ходу сосудистой сети следуют холинергические нервные волокна, образующие петлистые конгломераты.

На фиг. 8б показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 1 месяц после размещения ксенографта глиомы С6б и тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ.

АХЭ-положительные нервные волокна в области ПТФЕ, имплантированного в толщу опухоли x200. Для размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ в толще опухоли характерно развитие умеренного реактивного отека клеток глиомы, отмечено скопление мелких полиморфных недифференцированных опухолевых клеток, формирующих своеобразную капсулу.

По ходу следования сосудов в толще опухоли выявляются холинергические нервные волокна.

На фиг. 8в показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 1 месяц после размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ.

АХЭ-положительные нервные волокна в области ПТФЕ в толще серого вещества головного мозга x400.

Через один месяц после размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ в области интеграции не отмечено некроза, но сохраняется реактивный отек. Отмечается активация клеток микроглии, а также макрофагов центральной нервной системы, мигрирующих из отдаленных участков головного мозга к тканезамещающему аппликатору.

В области серого вещества мозга, окружающей тканезамещающий аппликатор, выявляется сеть нервных волокон, следующих по ходу сосудов и проникающих в поры тканезамещающего аппликатора.

Вывод: через 1 месяц после имплантации в кору головного мозга крыс с экспериментальной глиомой С6 тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЕ в прилежащих областях, окружающих тканезамещающий аппликатор, выявляются очаги распада опухоли. Вблизи очагов формируются скопления малодифференцированных клеток опухоли с формированием "псевдопалисада". Полученные данные дают основание полагать, что имплантированный в кору головного мозга материал ПТФЕ способствует распаду окружающей его опухолевой ткани.

Пример 3.

Анализ гистологии ткани головного мозга крыс линии Вистар, которым на период 4 месяца в область сенсомоторной коры размещали тканезамещающие аппликаторы из пористого ПТФЕ или ксенографты глиомы С6 и тканезамещающие аппликаторы из пористого ПТФЕ.

Объектом исследования *in vivo* являлась кора головного мозга крыс линии Вистар, которые были

разделены на 2 группы: 1 группа - крысы, которым на 4 месяца в область сенсомоторной коры головного мозга были размещены ксенографты глиомы С6 и тканезамещающие аппликаторы из пористого ПТФЭ 2 группа - крысы, которым на 4 месяца в область сенсомоторной коры головного мозга были размещены тканезамещающие аппликаторы из пористого ПТФЭ.

Работа выполнена при помощи гистологического (окраска гематоксилином и эозином), нейрогистологического (окраска по Нисслию) и гистохимических методов исследования (выявление активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ)).

Криостатные срезы ткани головного мозга крыс линии Вистар окрашивали гематоксилином и эозином и толуидиновым синим, затем изучали на светооптическом уровне. Окраска гематоксилин-эозином для определения структуры ткани включает использование основного красителя гематоксилина, окрашивающего базофильные клеточные структуры ярко-синим цветом, и спиртового кислого красителя эозина Y, окрашивающего эозинофильные структуры клетки красно-розовым цветом. Базофильные структуры, как правило, это те, которые содержат нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК): клеточное ядро, рибосомы и РНК-богатые участки цитоплазмы. Эозинофильные структуры содержат внутри- и внеклеточные белки, например, тельца Леви. Цитоплазма является эозинофильной средой. Эритроциты всегда прокрашиваются ярко-красным цветом.

На фиг. 9а показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 4 месяца после размещения ксенографта глиомы С66 и тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЭ.

Массивные очаги распада опухолевой ткани. Окраска гематоксилином и эозином, x100.

На фиг. 9б показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 4 месяца после размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЭ.

Тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЭ, имплантированный в кору головного мозга экспериментальных крыс после предварительно нанесенной травмы (4 мес.). Замещение области дефекта мозга регенерирующей нервной тканью. (ПТФЭ - темно-коричневый цвет) Окраска гематоксилином и эозином, x100.

Криостатные срезы ткани головного мозга крыс линии Вистар окрашивали по Нисслию, затем изучали для выявления элементов нервной ткани, x100.

На фиг. 10а показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 4 месяца после размещения ксенографта глиомы С66 и тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЭ.

Тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЭ, имплантированный в ткань опухоли головного мозга экспериментальной крысы (4 мес.). Клетки микроглии в области распада опухоли. Окраска по Нисслию, x100.

На фиг. 10б показан криостатный срез ткани головного мозга крыс линии Вистар через 4 месяца после размещения тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЭ.

Тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЭ, имплантированный в кору головного мозга экспериментальных крыс после предварительно нанесенной травмы (4 мес.). Скопления клеток микроглии, мигрирующих в область повреждения. Окраска по Нисслию, x100.

Вывод.

Тканезамещающий аппликатор из пористого ПТФЭ через 4 мес. после имплантации в ткань опухоли коры головного мозга экспериментальных крыс способствует формированию в опухоли множественных мелких очагов колликвационного некроза и массивных центральных очагов распада опухолевой ткани, приводящих к уменьшению размеров опухоли.

Через 4 месяца после имплантации в область повреждения коры головного мозга тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЭ у экспериментальных крыс наблюдается замещение дефекта регенерирующей нервной тканью, сопровождающееся новообразованием сосудов и прорастанием холинергических нервных волокон в толщу тканезамещающего аппликатора.

Гистологический анализ срезов головного мозга крысы с экспериментальной глиомой и имплантированным в ткань опухоли тканезамещающим аппликатором из пористого ПТФЭ выявил через 4 месяца. В области тканезамещающего аппликатора многочисленные мелкие очаги колликвационного некроза опухоли, а также массивные центральные очаги распада опухолевой ткани. В области распада опухоли мигрируют клетки микроглии. В сохранившихся ее участках отмечается полиморфизм клеточных структур, наличие многочисленных многоядерных гигантских клеток с признаками некробиотического поражения. Выявляются участки опухоли с полностью разрушенной паренхимой и частично сохраненной стромой.

В области имплантации тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЭ в опухоль выявляются единичные тонкие холинергические нервные волокна, следующие по ходу новообразованных сосудов.

Гистологический анализ срезов головного мозга экспериментальных крыс через 4 месяца после нанесения травмы в области коры мозга и имплантации в данную область тканезамещающего аппликатора из пористого ПТФЭ показал развитие в очаге повреждения репаративных процессов. На фоне сохраняющегося отека коры мозга отмечается пролиферация астроцитов в область пористого ПТФЭ, где они образуют скопления в толще волокон тканезамещающего аппликатора. Здесь же выявляются скопления клеток микроглии, которые мигрируют в область повреждения и трансформируются в макрофаги. В регене-

рирующей области коры мозга, прилежащей к тканезамещающему аппликатору из пористого ПТФЕ, выявляется сеть новообразованных сосудов. Область дефекта мозга полностью замещается регенерирующей нервной тканью.

В очаге регенерации головного мозга, в толще тканезамещающего аппликатора, выявляются тонкие холинергические нервные волокна, следующие по ходу сосудов между порами синтетического материала ПТФЕ.

Заключение.

Синтетический материал ПТФЕ через 4 месяца после имплантации в ткань опухоли коры головного мозга экспериментальных крыс способствует формированию в опухоли множественных мелких очагов колликативного некроза и массивных центральных очагов распада опухолевой ткани, приводящих к уменьшению размеров опухоли.

Через 4 месяца после имплантации в область повреждения коры головного мозга синтетического материала ПТФЕ у экспериментальных крыс наблюдается замещение дефекта регенерирующей нервной тканью, сопровождающееся новообразованием сосудов и прорастанием холинергических нервных волокон в толщу тканезамещающего аппликатора.

На основании полученных результатов можно заключить, что разработанная технология изготовления материалов на основе ПТФЕ позволяет создавать тканезамещающие аппликаторы, перспективные для дальнейшего исследования в аспекте возможности их применения биомедицинских технологиях.

Источники информации

1. Shinkai M., Yanase M., Honda H., Wakabayashi T., Yoshida J., Kobayashi T. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposome: in vitro study. // Jpn. J. Cancer Res. 1996. V. 87. P. 1179 – 1183
2. Yanase M., Shinkai M., Honda H., Wakabayashi T., Yoshida J., Kobayashi, T. Antitumor immunity induction by intracellular hyperthermia using magnetite cationic liposomes. // Jpn. J. Cancer Res. 1998. V. 89. P. 775 – 782;
3. Matsuno H., Tohnai I., Mitsudo K., Hayashi Y., Ito M., Shinkai M., Kobayashi T., Yoshida J., Ueda M. Interstitial hyperthermia using magnetite cationic liposomes inhibit to tumor growth of VX-7 transplanted tumor in rabbit tongue. // Jpn. J. Hyperthermic Oncol. 2001. V. 17. P. 141 – 149;
4. Suzuki M., Shinkai M., Honda H., Kobayashi T. Anticancer effect and immune induction by hyperthermia of malignant melanoma using magnetite cationic liposomes. // Melanoma Res. 2003. V. 13. P. 129 – 135;
5. Matsuoka F., Shinkai M., Honda H., Kubo T., Sugita T., Kobayashi, T. Hyperthermia using magnetite cationic liposomes for hamster osteosarcoma. Biomagn. // Res. Technol. 2004, № 2. P. 3.
6. Ito A., Shinkai M., Honda H., Wakabayashi T., Yoshida J., Kobayashi, T. Augmentation of MHC class I antigen presentation via heat shock protein expression by hyperthermia. // Cancer Immunol. Immunother. 2001.V. 50. P. 515 - 522]

7. Патент России №2506971, публ. 20.02.2014
8. Патент США №6997863, публ. 14.02.2006.
9. Патент США №8119165, публ. 21.02.2012.
10. Heidari M, Sattarhady N, Javadvour S, Azarpira N, Heli H, Mehdizadeh A, Rajaei A, Zare T. Effect of Magnetic Fluid Hyperthermia on Implanted Melanoma in Mouse Models// Iran J Med Sci. 2016 Jul; 41(4): 314–321. PMID: PMC4912650.
11. Choi KH, Nam KC, Malkinski L, Choi EH, Jung JS, Park BJ. Size-Dependent Photodynamic Anticancer Activity of Biocompatible Multifunctional Magnetic Submicron Particles in Prostate Cancer Cells// Molecules. 2016 Sep 6;21(9). pii: E1187. doi: 10.3390/molecules21091187.
12. (<https://biomolecula.ru/articles/nevidimaia-granitsa-gde-stalkivaiutsia-nano-i-bio>).
13. Патент России №2497489, публ. 10.11.2013 (прототип)
14. Патент Беларуси №10325, публ. 28.02.2008.

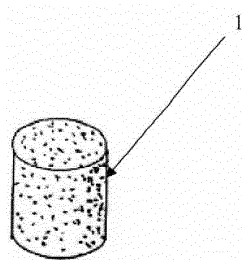
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ локального воздействия на биологические ткани, заключающийся в том, что в непосредственном контакте с биологической тканью, подлежащей воздействию, размещают полимерный тканезамещающий аппликатор, отличающийся тем, что в качестве полимерного материала используют пористый политетрафторэтилен, биологическая ткань, подвергаемая воздействию, является тканью опухоли, и биологическая ткань подвергается цитостатическому воздействию пористого политетрафторэтилена без внешнего воздействия, прилагаемого к ней.

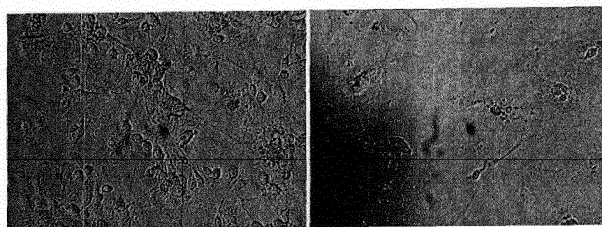
2. Тканезамещающий аппликатор для размещения в непосредственном контакте с тканью опухоли, изготовленный из полимерного материала, отличающийся тем, что он выполнен из пористого политетрафторэтилена с возможностью цитостатического воздействия на ткань опухоли.

3. Применение пористого политетрафторэтилена в качестве цитостатика.

4. Применение пористого политетрафторэтилена для изготовления тканезамещающего аппликатора по п.2.



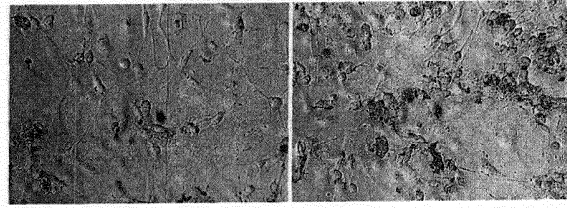
Фиг. 1



а)

б)

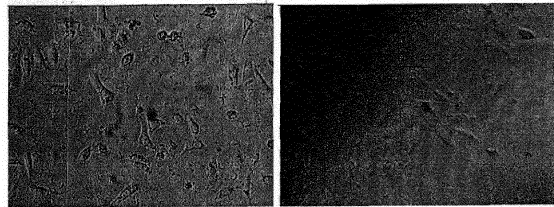
Фиг. 2



a)

b)

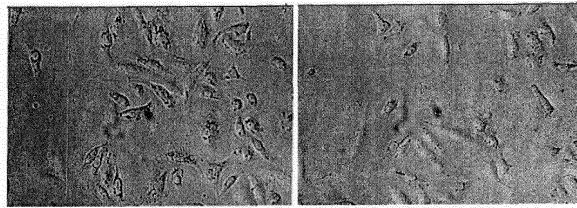
Фиг. 3



a)

б)

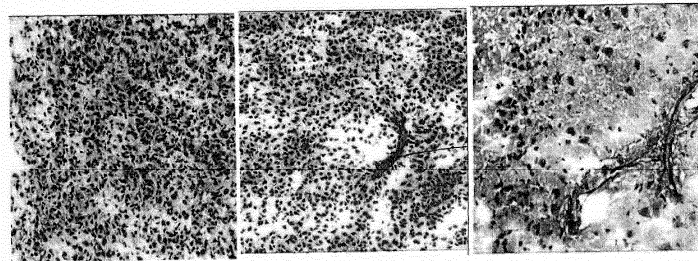
Фиг. 4



a)

б)

Фиг. 5

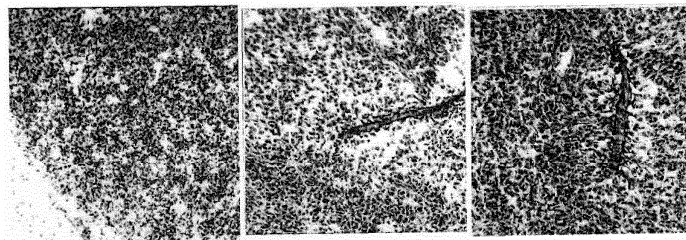


a)

б)

в)

Фиг. 6

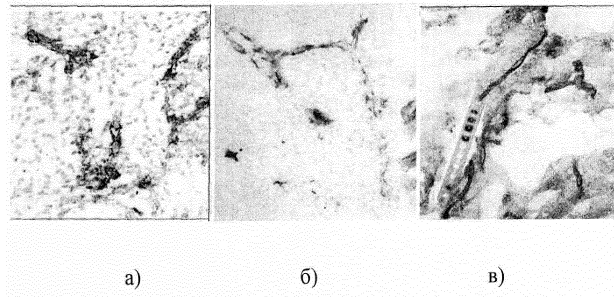


a)

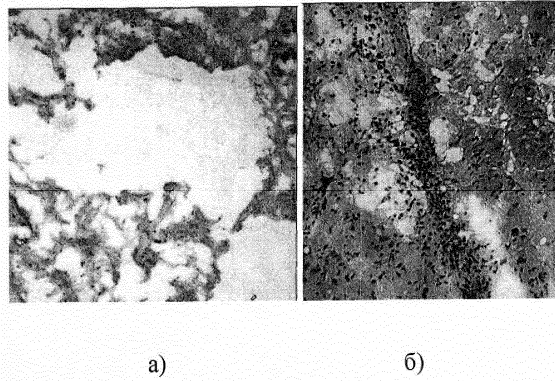
б)

в)

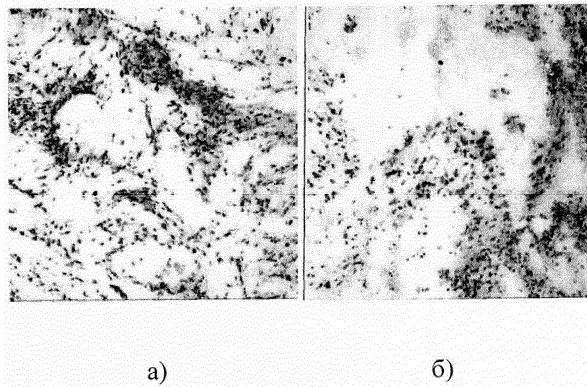
Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10