

УДК 541.64:539.2

## СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ПОЛИАКРИЛАМИДНЫХ ГЕЛЕЙ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В МЕДИЦИНЕ

© 2004 г. В. В. Лопатин\*, А. А. Аскадский\*\*, А. С. Перегудов\*\*,  
В. А. Берестнев\*, А. Б. Шехтер\*\*\*

\*Федеральное Государственное унитарное предприятие  
"Научно-исследовательский институт резиновых и латексных изделий"  
107564 Москва, Краснобогатыйская ул., 42

\*\*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук  
119991 Москва, ул. Вавилова, 28

\*\*\*Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова  
119081 Москва, М. Пироговская ул., 2/6

Поступила в редакцию 01.04.2004 г.

Принята в печать 01.06.2004 г.

Методами ИК- и ЯМР-спектроскопии, термомеханического анализа и компьютерного моделирования изучено влияние условий получения гидрогелей на основе акриламида и N,N'-метиленабисакриламида на свойства гелей в конденсированном состоянии и на строение полимерной сетки. Обнаружено, что в зависимости от этих условий гели оказывают разное физиологическое влияние на ткани живого организма. Дополнительная тепловая обработка геля в автоклаве и добавочное  $\gamma$ -облучение приводит к некоторому увеличению степени сшивания сетки и образованию алкеновых структур в ее цепях. Методами гистологии и морфологии оценены основные возможности медицинского использования гелей. Показано, что гидрогель, сформированный при дополнительном  $\gamma$ -облучении и тепловой обработке, при имплантации в живой организм длительно сохраняет свою форму. Тканевая реакция на имплантацию такого геля минимальна: воспалительная реакция через 3–90 суток мала, фибробластическая реакция слабо выражена, капсула после длительного пребывания геля в организме (6–9 месяцев) остается тонкой. Резорбция геля макрофагами и прорастание его соединительной тканью происходит очень медленно и только в прикапсульном слое.

### ВВЕДЕНИЕ

Сополимеры акриламида и N,N'-метиленабисакриламида, полученные радикальной сополимеризацией (в присутствии персульфата аммония) в виде гидрогелей, начали применять в медицинских целях в середине 70-х годов XX века [1]. Имеется много публикаций [2–11], в которых изложены принципы синтеза таких гидрогелей. Существенное внимание уделяется получению гидрогелей под действием  $\gamma$ -излучения [12–20]. В обзорной работе [2] приведены результаты исследований структуры полимерной сетки гелей, сформированных при разных дозах  $\gamma$ -излучения. Дозы варьировали от 0.35 до 9.1 Мрад, и при этом степень сшивки увеличивалась в ~16 раз при соответствующем уменьшении степени набухания.

Водонабухающие полимерные сетки на основе акриламида используют в пластической хирургии в качестве вводимых инъекционным путем имплантатов для лицевой пластики и пластики мягких тканей [21–27]. Преимущество указанных сополимеров перед другими материалами заключается в том, что содержание самого сополимера в водном геле низко и составляет всего 3–4%. При этом количество введенного в организм геля можно довести до 200–300 г одновременно.

В работах [28–31] изучено влияние условий синтеза на степень набухания и среднее расстояние между узлами сетки. В работах [23, 25] изложены результаты гистологических и морфологических испытаний, дающие важную для медицинских материалов характеристику – тканевую реакцию на полиакриламидные гели. Также выполнены работы, позволяющие качественно оценить влияние некоторых функциональных групп на поведение гидрогелей *in vivo* [21–27].

E-mail: andrey@ineos.ac.ru (Аскадский Андрей Александрович).

Однако влияние особенностей строения молекулярной сетки полиакриламидных гелей на их важнейшие медицинские свойства, особенно на биологические, морфологические и гистологические характеристики, систематически не исследовано. Проведение таких исследований весьма важно, поскольку структура геля формируется не только в процессе синтеза, но и при его последующей обработке.

К современным инъекционным материалам медицинского назначения предъявляется ряд специфических требований, таких как интактность, биосовместимость, атравматичность при введении. В связи с этим представляется необходимым изучить влияние основных параметров получения геля не только на его структуру, но и на тканевую реакцию живого организма.

Ниже изложены результаты анализа химического строения полимерной сетки, образующейся на разных стадиях изготовления полиакриламидных гидрогелей, а также влияния способа формирования гелей на тканевую реакцию в организме.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### *Получение образцов*

Исследовано четыре образца водонабухающего сополимера акриламида и N,N'-метиленабисакриламида (МБАА).

**Образец 1.** Готовили навеску (г): акриламид – 3.55, МБАА – 0.030, персульфат аммония – 0.0505. Использовали продукты фирмы "Aldrich". Приготовленную навеску растворяли в 100 мл дистиллированной воды при 40–50°C в такой последовательности: акриламид, МБАА, персульфат аммония. После этого раствор фильтровали на воронке Бюхнера через полимерный фильтр с размером пор 45 мкм. Отфильтрованный раствор разливали по флаконам объемом 20 мл, заполняя их на 1/2 высоты. Флаконы закупоривали резиновыми пробками и закатывали жестяными крышками. После этого их помещали в воздушный термостат и термостатировали при  $70 \pm 4^\circ\text{C}$  в течение 18 ч. По окончании термостатирования гель во флаконах облучали на  $\gamma$ -установке "Исследователь" (доза облучения 0.5 Мрад).

**Образец 2.** Готовили как и образец 1. Затем вскрывали флаконы и промывали гель дистиллированной водой. Флаконы заполняли водой и вы-

держивали 10 мин, затем воду сливали. Объемное соотношение вода : гель составляло 1 : 4, промывку проводили 2 раза. После промывки геля флаконы закупоривали и облучали на  $\gamma$ -установке (доза облучения на этой стадии 0.5 Мрад, а общая доза для образца составляла 1 Мрад).

**Образец 3.** Готовили как и образец 2, но после облучения флаконы стерилизовали при температуре 120°C и избыточном давлении 1.2 атм. в течение 40 мин.

**Образец 4.** Готовили как и образец 3. После стерилизации гель облучали на  $\gamma$ -установке; доза облучения на этом этапе составляла дополнительно 1 Мрад, а общая доза для образца 2 Мрад.

### *Спектральный анализ*

**ИК-спектроскопия.** Измерения проводили не на гелях, имеющих малую концентрацию полимерной сетки, а на тщательно высушенных образцах. Это делалось для того, чтобы концентрация сополимера в пробах была близка к 100%. Поскольку образцы полимеров из высушенных гелей представляли собой очень твердую стеклообразную массу, их механически размалывали в порошок, который использовали для приготовления таблеток с КВг или суспензии в вазелиновом масле.

Спектры получены на ИК-Фурье спектрометре "Magna-IR 750" фирмы "Nicolet" со спектральным разрешением  $2 \text{ см}^{-1}$ .

**ЯМР-спектроскопия.** Для более детального анализа структуры сеток, подвергнутых  $\gamma$ -облучению, изучали их спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и ЯМР  $^{13}\text{C}$ , которые регистрировали на спектрометре AMX 400 фирмы "Bruker" с рабочей частотой 400.13 и 100.61 МГц соответственно.

### *Термомеханический анализ*

Для термомеханических исследований использовали сухие пробы, приготовленные из тщательно высушенных гелей. Термомеханические кривые получали в условиях пенетрации пуансона диаметром 4 мм при нагрузке на пуансон 100 г.

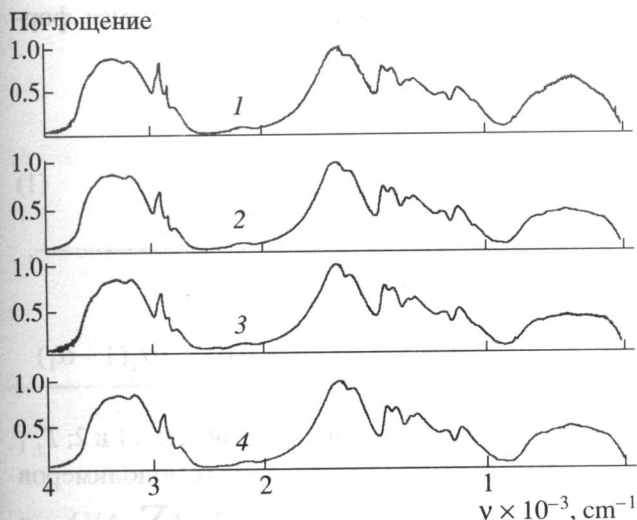


Рис. 1. ИК-спектры образцов высушенных гидрогелей. Номера спектров соответствуют номерам образцов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Измерены ИК-спектры всех четырех образцов сополимера акриламид–МБАА. Анализ показал, что спектры каждого из образцов, полученные с КВг и в вазелиновом масле, идентичны. На рис. 1 приведены ИК-спектры образцов в таблетках с КВг. Видно, что спектры содержат широкие плохо разрешенные полосы, что встречается в сетчатых полимерах. Наблюдается широкое ин-

тенсивное поглощение со сложным контуром в области  $3400\text{--}3100\text{ см}^{-1}$ , принадлежащее валентным колебаниям групп NH. Сложный контур полосы связан с сильными межмолекулярными водородными связями, образующимися в твердом состоянии геля. В спектрах имеется также интенсивная полоса Амид I в области  $1650\text{ см}^{-1}$ , но отсутствует полоса Амид II при  $1550\text{ см}^{-1}$ . Это, по-видимому, обусловлено тем, что полоса Амид II замаскирована широкой полосой Амид I.

Проведены также термомеханические исследования всех образцов. Термомеханический анализ позволил выявить изменения в температуре стеклования полимерных сеток, являющихся основой гидрогелей. Термомеханические кривые представлены на рис. 2. Из этих данных следует, что при нагревании образцы начинают размягчаться при температуре около  $100^\circ\text{C}$ , но при температуре вблизи  $170^\circ\text{C}$  резко проявляется “отрицательная” деформация, свидетельствующая о том, что образцы быстро увеличивают свой объем. Такой характер термомеханического поведения полимеров детально проанализирован в работах [32–34]. В нашем случае это связано с тем, что при сушке гелей в материале возникают большие внутренние напряжения, которые при температуре стеклования исчезают и образец вспучивается. После снятия внутренних напряжений деформация образцов быстро возрастает и достигает

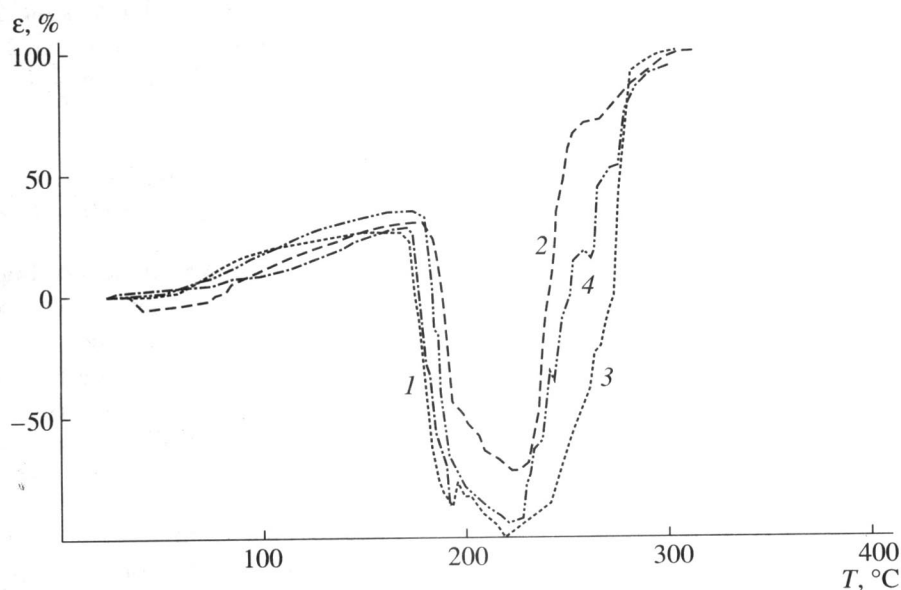


Рис. 2. Термомеханические кривые высушенных гидрогелей. Номера спектров соответствуют номерам образцов.

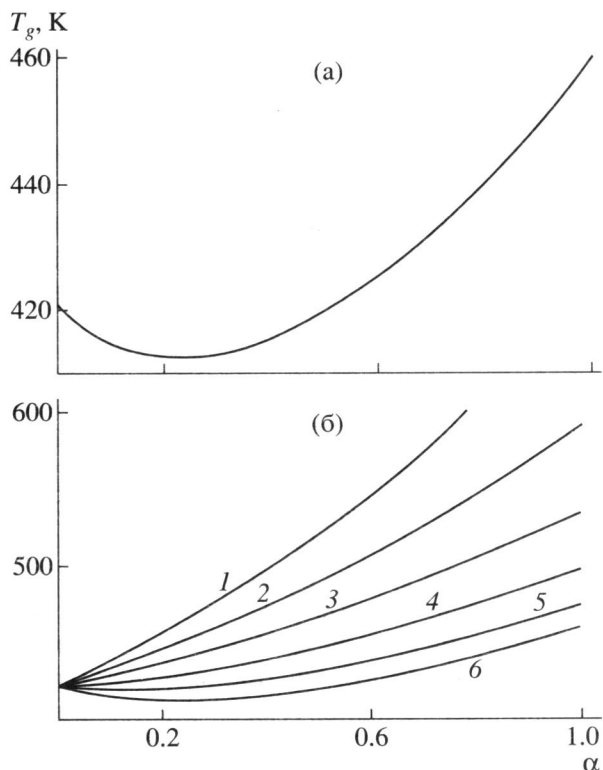
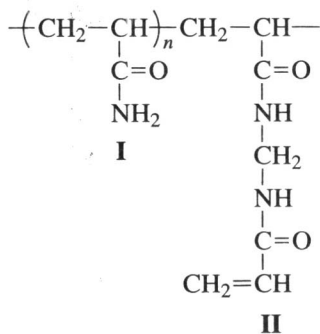


Рис. 3. Зависимости температуры стеклования  $T_g$  от мольной доли МБАА  $\alpha$  для линейного (а) и сетчатых полимеров (б).  $\beta = 0$  (1), 0.2 (2), 0.4 (3), 0.6 (4), 0.8 (5) и 1 (6).

100% при 280–300°C. Из рис. 2 также видно, что температура стеклования у образцов 2 и 4 несколько выше, чем у образца 1.

Проведем более подробный анализ влияния химического строения изучаемых сеток на их температуру стеклования  $T_g$ . На начальной стадии сополимеризации акриламида и МБАА последний встраивается одним концом в линейную цепь полиакриламида согласно схеме



Для расчета зависимости температуры стеклования  $T_g$  от мольной доли МБАА  $\alpha$  для линейного

сополимера с акриламидом воспользуемся формулой [33, 34]

$$T_g = \frac{\alpha_1 \left( \sum_i \Delta V_i \right)_1 + \alpha_2 \left( \sum_i \Delta V_i \right)_2}{\alpha_1 \frac{\left( \sum_i \Delta V_i \right)_1}{T_{g,1}} + \alpha_2 \frac{\left( \sum_i \Delta V_i \right)_2}{T_{g,2}} + 0.03 \times 2\alpha_1(1 - \alpha_1)} \quad (1)$$

где  $\alpha_1$  и  $\alpha_2$  – мольные доли компонентов 1 и 2;  $T_{g,1}$  и  $T_{g,2}$  – температуры стеклования гомополимеров на основе компонентов 1 и 2;  $\left( \sum_i \Delta V_i \right)_1$  и  $\left( \sum_i \Delta V_i \right)_2$  – ван-дер-ваальсовы объемы повторяющихся звеньев гомополимеров 1 и 2.

Необходимые значения ван-дер-ваальсова объема компонентов I и II, а также расчетные величины  $T_g$  были найдены с помощью ЭВМ-программы SNEOPS, выпускаемой фирмой "MillionZillion Software Company" (USA). Полученные значения следующие:

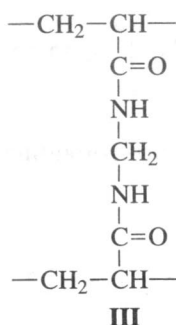
$$\begin{aligned} \left( \sum_i \Delta V_i \right)_I &= 64.3 \text{ \AA}^3; & \left( \sum_i \Delta V_i \right)_{II} &= 142 \text{ \AA}^3; \\ T_{g,I} &= 421 \text{ K}; & T_{g,II} &= 460 \text{ K} \end{aligned}$$

После подстановки в уравнение (1) значений всех параметров получаем соотношение для расчета зависимости температуры стеклования от мольной доли МБАА  $\alpha$ :

$$T_g = \frac{64.3 + 77.7\alpha}{0.15273 + 0.15597\alpha + 0.06\alpha(1 - \alpha)} \quad (2)$$

Расчеты, проведенные по формуле (2), показывают, что с увеличением  $\alpha$  температура стеклования проходит через минимум, который появляется при малых величинах  $\alpha$  (рис. 3). Это означает, что на ранних стадиях сополимеризации, когда образуются еще линейные полимерные структуры,  $T_g$  не возрастает, а понижается.

Рассмотрим следующую стадию, на которой формируется полимерная сетка в результате встраивания свободного конца МБАА в соседнюю цепь. При этом образуется узел сшивки – структура III:

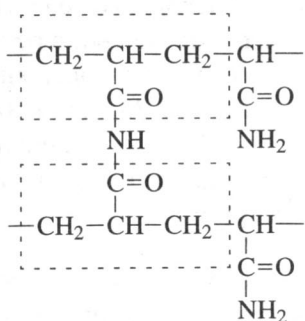


Введем дополнительные обозначения:  $\beta$  – доля МБАА, образующего звенья *линейного* полимера (структура II),  $(1 - \beta)$  – доля МБАА, образующего полимерную сетку (структура III). Общую долю МБАА будем по-прежнему обозначать через  $\alpha$ .

Для трехкомпонентной системы уравнение (1) после подстановки всех значений ван-дер-ваальсова объема и температур стеклования компонентов принимает вид

$$T_g = \frac{64.3 + 69.7\alpha + 8\alpha\beta}{0.15273 + 0.04517\alpha + 0.1108\alpha\beta + 0.06\alpha(1 - \alpha + \alpha\beta - \alpha\beta^2)} \quad (3)$$

(Заметим, что для структуры III ван-дер-ваальсов объем ( $\sum_i \Delta V_i$ )<sub>III</sub> = 134 Å<sup>3</sup>, а расчетная температура стеклования  $T_g = 677$  К.) Расчеты, проведенные по формуле (3) при разных значениях  $\beta$ , показывают (рис. 3б), что с уменьшением  $\beta$  (т.е. с уменьшением доли МБАА, входящего в звенья линейного полимера, или с увеличением степени сшивания) минимум на зависимости  $T_g$  от  $\alpha$  исчезает, а сама зависимость становится более крутой. Таким образом, для повышения  $T_g$  на несколько градусов прежде всего необходимо увеличить долю МБАА, формирующего сетку. Такое повышение, например, достигает 2–3° при  $\alpha = 0.01$ , если  $\beta$  меняется от 0.4 до 0. Однако в эксперименте температура стеклования при переходе от образца 1 к образцу 2 повышается на 9–10°. Это может быть связано только с появлением дополнительных поперечных связей, и как показывают имеющиеся экспериментальные данные [35–37], происходит за счет образования имидных групп



Рассмотрим влияние частоты таких сшивок на  $T_g$ . Величину  $T_g$  будем рассчитывать по уравнению [33, 34]

$$T_g = \frac{\sum_i \Delta V_i}{\left( \sum_i a_i \Delta V_i + \sum_j b_j \right)_л + \left( \sum_i K_i \Delta V_i \right)_y} \quad (4)$$

Здесь  $\sum_i \Delta V_i$  – ван-дер-ваальсовы объемы атомов, входящих в линейные фрагменты и в узел;  $b_j$  и  $a_i$  – константы, характеризующие соответственно вклад сильного и слабого межмолекулярного взаимодействия в температуру стеклования;  $K_i$  – константы, характеризующие вклад химических связей в узлах сетки; индексы “л” и “у” характеризуют соответственно линейные фрагменты и узлы.

Узел рассматриваемой сетки обведен пунктиром, причем видно, что группа CH<sub>2</sub>, принадлежащая соседнему звену полиакриламида, входит в состав узла, что необходимо учитывать при расчете. Результаты расчета всех величин, входящих в уравнение (4), приведены ниже.

Для узла сетки

$$\left( \sum_i \Delta V_i \right)_y = 65.35 \text{ Å}^3,$$

$$\left( \sum_i K_i \Delta V_i \right)_y = 100.2 \times 10^{-3} \text{ Å}^3/\text{K},$$

для линейного фрагмента имидной группы

$$\left( \sum_i \Delta V_i \right)_л = 8.5 \text{ \AA}^3,$$

$$\left( \sum_i a_i \Delta V_i + \sum_j b_j \right)_л = -166.17 \times 10^{-3} \text{ \AA}^3/\text{K},$$

для звена полиакриламида, примыкающего к узлу

$$\left( \sum_i \Delta V_i \right)_у^* = 47.2 \text{ \AA}^3,$$

$$\left( \sum_i a_i \Delta V_i + \sum_j b_j \right)^* = 72.52 \times 10^{-3} \text{ \AA}^3/\text{K},$$

для “нормального” повторяющегося звена полиакриламида

$$\left( \sum_i \Delta V_i \right)_I = 64.3 \text{ \AA}^3,$$

$$\left( \sum_i a_i \Delta V_i + \sum_j b_j \right)_I = 152.7 \times 10^{-3} \text{ \AA}^3/\text{K}$$

С такими обозначениями уравнение (4) трансформируется в соотношение

$$T_g = \frac{\left( \sum_i \Delta V_i \right)_у + \frac{1}{2} \left( \sum_i \Delta V_i \right)_л + \left( \sum_i \Delta V_i \right)_у^* + \left( \sum_i \Delta V_i \right)_I (n-1)}{\left( \sum_i K_i \Delta V_i \right)_у + \frac{1}{2} \left( \sum_i a_i \Delta V_i + \sum_j b_j \right)_л + \left( \sum_i a_i \Delta V_i + \sum_j b_j \right)_у^* + \left( \sum_i a_i \Delta V_i + \sum_j b_j \right)_I (n-1)}, \quad (5)$$

где  $n$  – число повторяющихся звеньев полиакриламида между узлами сетки. Подставляя численные значения всех параметров в соотношение (5), имеем

$$T_g = \frac{52.5 - 64.3n}{152.7n - 63.06} \quad (6)$$

Если узлы отсутствуют (т.е.  $n \rightarrow \infty$ ), то по соотношению (6) получаем расчетную температуру стеклования линейного полиакриламида  $T_g = 421$  К.

Если температура стеклования повышается на  $7^\circ$  (чтобы суммарное повышение составляло  $10$  град), то, согласно формуле (6),  $n = 76$ . Это означает, что степень сшивания за счет образования имидных групп возрастает на  $1.3\%$ . Такое небольшое увеличение степени сшивания наряду с формированием сетки за счет МБАА и приводит к повышению температуры стеклования на  $10$  град при переходе от образца 1 к образцу 2, что связано с дополнительным  $\gamma$ -облучением.

Рассмотрим далее результаты анализа гелей методом ЯМР-спектроскопии. Спектр ПМР исходного геля в  $D_2O$  (рис. 4) содержит две группы уширенных сигналов при  $1.5$  и  $2.0$  м.д. с соотношением интегральных интенсивностей, относя-

щихся к фрагментам  $CH_2$  и  $CH$  полимера, равным  $2 : 1$ . Уширение сигналов, по-видимому, связано со стерическим напряжением в полимере, вследствие чего эти фрагменты оказываются в несколько разном магнитном окружении из-за анизотропных эффектов соседних групп. В спектре ПМР также видны уширенные сигналы значительно меньшей интенсивности при  $6.7$  и  $7.4$  м.д., которые могут принадлежать олефиновым протонам исходного мономера, а также продуктам полимеризации. Содержание протонов не превышает  $3\%$ .

Спектр ЯМР  $^{13}C$  исходного геля в  $D_2O$  (рис. 5), для отнесения сигналов снятый в режиме  $J$ -модулированного спинового эха, содержит набор сигналов групп  $CH_2$  при  $36-38$  м.д., набор сигналов групп  $CH$  при  $43.5-44.3$  м.д. и уширенный сигнал при  $182$  м.д., относящийся к ядрам карбонильных углеродов полимера.

Поскольку после  $\gamma$ -облучения дозой  $2$  Мрад изменения в спектрах практически отсутствуют, было проведено облучение с большей дозой, которое привело к ощутимым изменениям в структуре изучаемых полимеров. После облучения до дозы  $3.5$  Мрад спектры ЯМР заметно изменились,

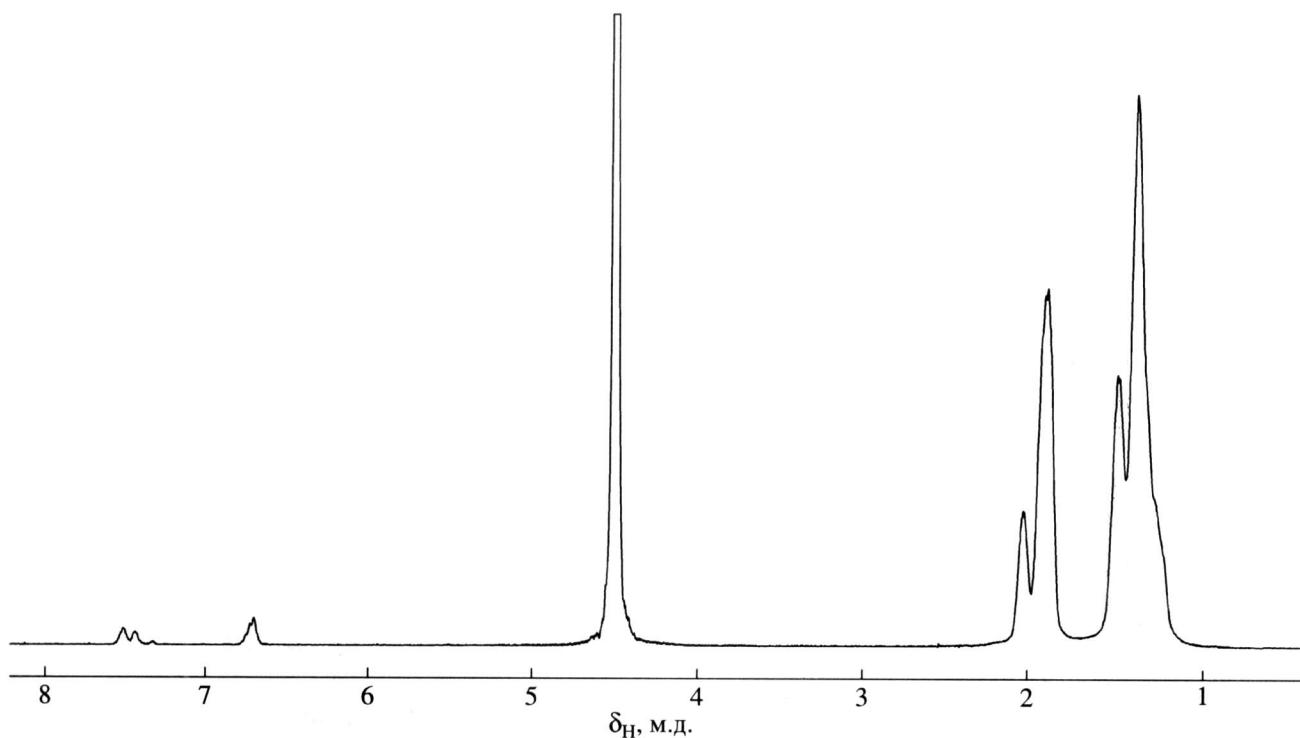


Рис. 4. ПМР-спектр исходного геля на основе полиакриламида в  $D_2O$ .

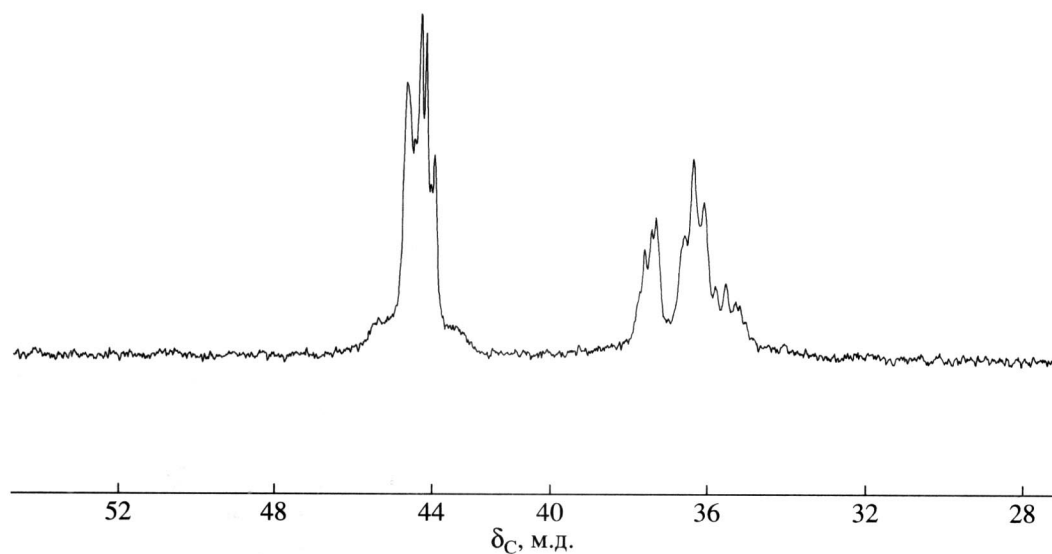


Рис. 5. Спектр ЯМР  $^{13}C$  исходного геля на основе полиакриламида в  $D_2O$ , снятый в режиме  $J$ -модулированного спинового эха.

что может свидетельствовать о появлении структурных изменений при облучении.

На рис. 6 показан спектр ЯМР  $^{13}C$  сильно облученного образца, записанный в обычном режиме. Видно, что в основании группы сигналов ядер углеродов группы СН при 44 м.д. образуются широ-

кие плечи, наличие которых указывает на появление новых групп СН в другом структурном окружении по сравнению с исходным полимером. В спектре также наблюдается очень широкий сигнал с центром при  $\sim 120$  м.д. Этот сигнал может быть обусловлен алкеновыми структурами, образующимися при длительном  $\gamma$ -облучении. Нали-

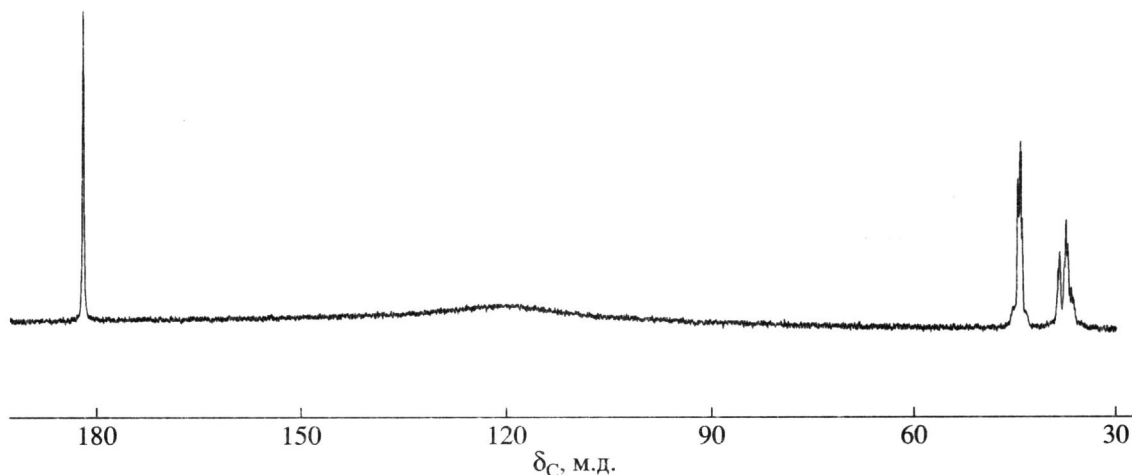
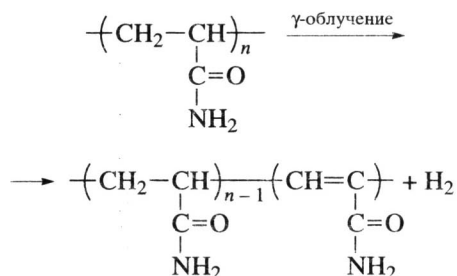


Рис. 6. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  геля после длительного  $\gamma$ -облучения.

чие таких структур может быть связано либо с образованием свободной акриловой кислоты в результате длительного  $\gamma$ -облучения, либо с выделением водорода из повторяющихся звеньев основной цепи полиакриламида и их трансформацией по схеме



Для анализа механизма возникновения алкеновых структур в гель, содержащий 3.5 мас. % МБАА, было добавлено 5% акриловой кислоты и измерен спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  такой системы. Оказалось, что этот спектр не обнаруживает указанных выше плеч, которые видны на рис. 6, и не отличается от спектра без добавок. Следовательно, появление широкого сигнала связано с образованием структур согласно приведенной выше схеме.

Таким образом, эксперименты и расчеты показывают, что в результате  $\gamma$ -облучения происходит формирование дополнительных поперечных связей между цепями сетки в небольшой концентрации и структур, содержащих связи  $>\text{C}=\text{C}<$ . Казалось бы, структурные изменения полимера незначительны. Однако они приводят к заметным изменениям поведения полимерных гелей данного типа в белковых тканях. Это показывают ре-

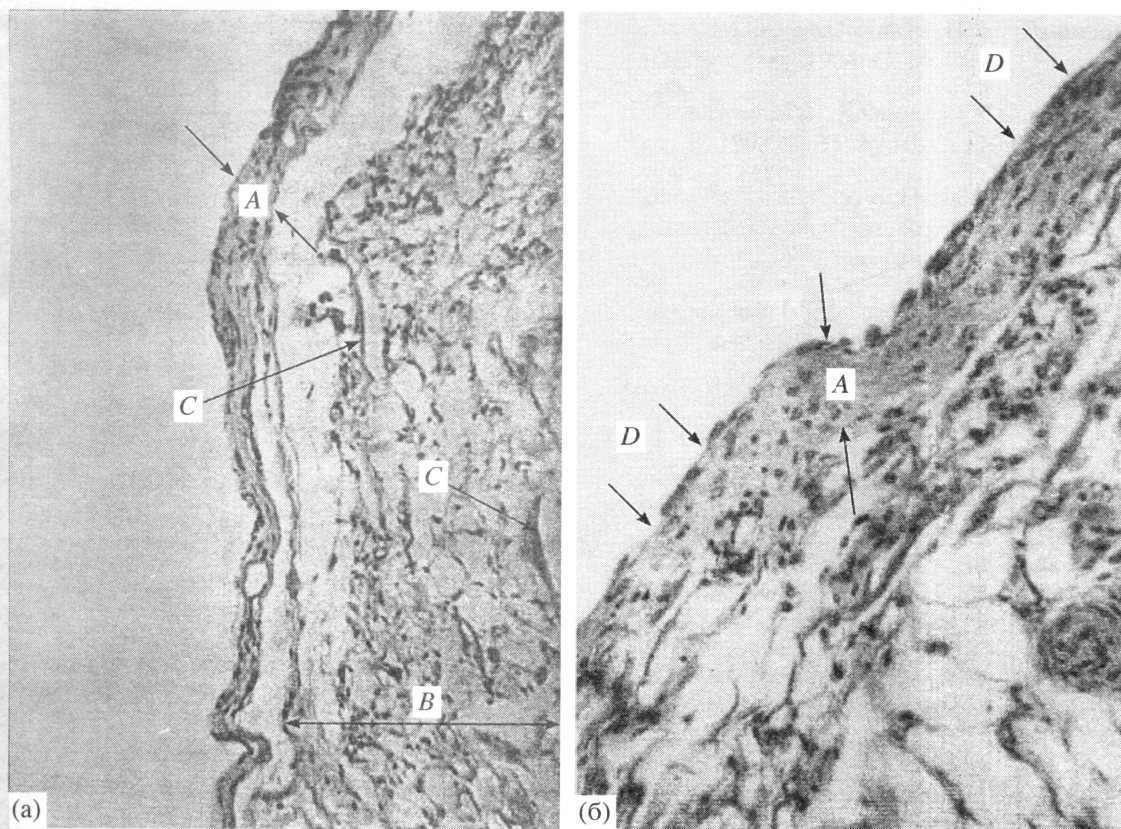
зультаты морфологических и гистологических исследований, приведенные ниже.

Для таких исследований использовались три типа геля, которые соответствовали образцам 1, 3 и 4. Тканевую реакцию на имплантацию геля изучали экспериментально-морфологическим и клинко-морфологическим методами. В первом случае гель имплантировали подкожно и внутримышечно путем инъекции. Исследование проводили на 160 крысах-самцах линии "Август" весом 200 г и 10 собаках. Крысам вводили 1 мл геля; срок его пребывания в организме составлял 3, 7, 14, 30 и 90 суток. Длительные сроки имплантации (6, 9, 12 месяцев) изучали на собаках, которым вводили по 15 мл геля подкожно.

В клинике морфологическое исследование проводили в трех наблюдениях: через месяц после имплантации под кожу лицевой области и через 6 и 6.5 месяцев после имплантации с целью увеличивающей маммопластики путем наполнения гелем полости фиброзной капсулы после удаления протезов.

Для гистологического и гистохимического исследования тканевые блоки фиксировали в 96%-ном спирте или нейтральном формалине, заливали в парафин. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, серебрением по Гомори для изучения волокнистых компонентов, толуидиновым синим на кислые гликозаминогликаны; кроме того, их исследовали ПАС-реакцией на гликоген и гликопротеины, реакцией Браше на РНК.





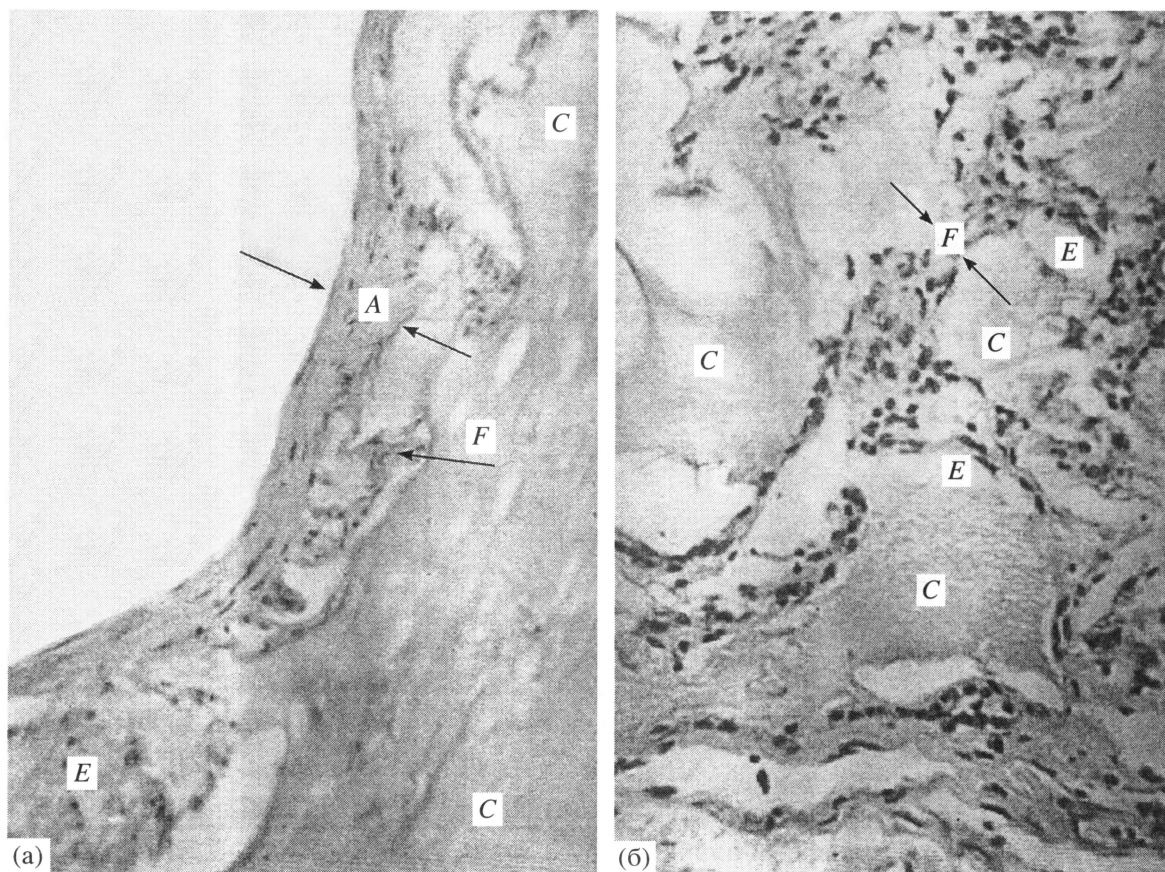
**Рис. 7.** Гистологический срез биопсии ткани крысы, взятой на 30 сутки после имплантации крысам геля типа 4 (а) и 3 (б).  $\times 250$  (а) и  $400$  (б).

Результаты исследований геля типа 1 показали, что через 7 суток после имплантации капсула вокруг геля состоит из незрелой грануляционной ткани, в которой выявляется воспалительная реакция в виде отека, нейтрофильной лимфоцитарной инфильтрации, выраженной макрофагальной реакции. Пролиферация фибробластов и созревание соединительных тканей замедлены. К 14-м суткам капсула имеет такую же толщину, причем грануляционная ткань созревает незначительно, остаются нейтрофильная воспалительная реакция и многочисленные макрофаги, резорбирующие гель. Через 36 суток весь имплантат представлен ячеистыми конгломератами, которые перемежаются со скоплениями крупных пенистых макрофагов. Соединительно-тканная капсула – толстая, состоит из склерозированной ткани, в которой сохраняется хроническая воспалительная инфильтрация.

Таким образом, гель типа 1 обуславливает выраженную и пролонгированную воспалительную

реакцию, а также сравнительно быструю макрофагальную резорбцию.

Морфологическое исследование тканевой реакции организма на имплантацию образцов гидрогелей 3 и 4, проведенное на крысах, показало, что эта реакция минимальна, хотя данные образцы по тканевой реакции несколько различаются между собой. Для образца 4 в ранние сроки (через 3–7 суток после имплантации) она ограничивается слабой лимфомакрофагальной инфильтрацией с единичными нейтрофилами и слабым отеком ткани, что свидетельствует о минимальной воспалительной реакции. На третьи сутки начинается пролиферация фибробластов в узкой зоне вокруг имплантата, а к седьмым суткам там формируется очень тонкая соединительно-тканная капсула, состоящая из фибробластов и тонких коллагеновых волокон. Эта капсула изнутри выстлана слоем макрофагов, граничащих с имплантатом. Через 14 суток капсула оформляется более четко, но остается тонкой и рыхлой. В толще капсулы, а также между ней и клетчаткой (в закапсульной



**Рис. 8.** Гистологический срез биопсии ткани собаки, взятой через 9 месяцев после имплантации геля типа 4 (а) и 3 (б).  $\times 400$  (а) и  $300$  (б).

зоне) видны небольшие фрагменты гидрогеля, окруженные макрофагами и отдельными гигантскими многоядерными клетками. Через 30 суток после имплантации капсула *A* остается тонкой (рис. 7а). Она состоит из зрелой соединительной ткани, количество фибробластов в которой уменьшается, а в оставшихся клетках снижается содержание рибонуклеиновой кислоты. В закапсульной зоне *B* остаются фрагменты гидрогеля *C*, которые резорбируются макрофагами. Внутренняя поверхность капсулы частично выстлана макрофагами. В последующие сроки (60 и 90 суток) структура капсулы не меняется, внутрь геля от капсулы местами проникают небольшие тяжи фибробластов.

Для сравнения на рис. 7б представлена фотография гистологического среза биопсии ткани крысы, взятой через 30 суток после подкожной инъекции гидрогеля 3. Как видно, соединительно-тканная капсула *A* вокруг имплантата более толстая, чем при имплантации гидрогеля 4. Внут-

ри капсулы на ее внутренней поверхности и в закапсулированной зоне увеличено содержание макрофагов *D*, гигантских многоядерных клеток и нейтрофилов, что свидетельствует о незначительно выраженном воспалительном процессе.

Тканевая реакция в более поздние сроки (6, 9 и 12 месяцев) была исследована при подкожной имплантации гидрогеля собакам. Как видно на рис. 8а, гидрогель типа 4 через 9 месяцев после имплантации в основном сохраняет свою гомогенную структуру. Вблизи очень тонкой и плотной соединительно-тканной капсулы *A* видна узкая зона *E* просветления (лизиса) гидрогеля, который здесь резорбируется макрофагами и прорастает тяжами *F* фибробластов. Глубокой инфильтрации клеток в гель у собак, как и у крыс, не выявлено, что и является причиной его длительной устойчивости. Отложений извести в капсуле и в самом гидрогеле как у собак, так и у крыс не наблюдается. Отсутствуют и дистрофические изменения клеток в ткани вокруг имплан-

тата, которые могли бы свидетельствовать о токсическом воздействии гидрогеля.

Для сравнения на рис. 8б представлена фотография гистологического среза биопсии ткани собаки, взятой также через 9 месяцев после подкожной инъекции образца типа 3. Как видно, гель типа 3 прорастает тяжами *F* соединительной ткани, содержащими фибробласты, макрофаги, лейкоциты и отдельные нейтрофильные лейкоциты. Отмечен частичный лизис *E* геля и его резорбция.

Клинико-морфологические наблюдения, проведенные после инъекции 90 мл образца гидрогеля 4 для дермотензии кожно-жирового лоскута на лице с целью последующей пластики рубцов, показали, что на границе между гидрогелем и тканями формируется тонкая и рыхлая соединительно-тканная капсула, состоящая всего из нескольких слоев коллагеновых волокон и фибробластов. Клеточная лимфо-макрофагальная инфильтрация минимальна. В некоторых участках снаружи от капсулы видны тканевые вакуоли, оставшиеся на месте резорбированного геля. Там отмечается слабо выраженная макрофагальная и гигантоклеточная реакция.

Таким образом, тканевая реакция принципиально зависит от способа получения геля. Гель 1 вызывает значительную воспалительную реакцию, интенсивную макрофагальную резорбцию и прорастание собственной тканью организма. Это связано с более быстрым и массивным разрушением межмолекулярных связей геля активной формой кислорода макрофагов и нейтрофилов, глубоко проникающих в гель в этом случае. Его сетка, видимо, разрушается, тканевая реакция при этом усиливается. Напротив, гели формы 3 и 4, отличающиеся от геля 1 условиями получения, вызывают минимальную тканевую реакцию на имплантацию, особенно гель типа 4. Воспалительная реакция в ранние сроки очень незначительна, фибробластическая реакция слабо выражена, капсула в поздние сроки остается тонкой. Резорбция геля макрофагами и прорастание его соединительной тканью происходит очень медленно и только в прикапсульном слое.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Платэ Н.А. // Синтетические полимеры медицинского назначения. Сб. лекций и материалов I Всесоюзной школы-семинара по медицинским поли-

мерам / Под ред. Платэ Н.А., Рашидовой С.Ш. Ташкент: Фан, 1984. С. 14.

2. Дубровский С.А., Казанский К.С. // Высокомолек. соед. Б. 1993. Т. 35. № 10. С. 1709.
3. Hydrogels for Medical and Related Applications / Ed. by Andrade J.D. Am. Chem. Soc. Symp. Ser. № 31. Washington: Am. Chem. Soc., 1976.
4. Hydrogels in Medicine and Pharmacy / Ed. by Peppas N.A. Boca Raton: CRC Press, 1986. V. 1-3.
5. Платэ Н.А., Васильев А.Е. // Высокомолек. соед. А. 1982. Т. 24. № 4. С. 675.
6. Kazansky K.S., Dubrovskii S.A. // Adv. Polym. Sci. 1992. V. 104. С. 97.
7. Казанский К.С., Ракова Г.В., Ениколопов Н.С., Агафонов О.А., Романов И.А., Усков И.Б. // Вестн. с.-х. науки. 1988. № 4. С. 125.
8. Дубровский С.А., Афанасьева М.В., Рыжкин М.А., Казанский К.С. // Высокомолек. соед. А. 1989. Т. 31. № 2. С. 321.
9. Дубровский С.А., Афанасьева М.В., Лагутина М.А., Казанский К.С. // Высокомолек. соед. А. 1990. Т. 32. № 1. С. 165.
10. Dubrovskii S.A., Afanas'eva M.V., Lagutina M.A., Kazansky K.S. // Polym. Bull. 1990. V. 24. № 1. С. 107.
11. Dubrovskii S.A., Ilavsky M., Arkhipovich G.N. // Polym. Bull. 1992. V. 29. № 5. С. 587.
12. Иценко И.К., Ткач Л.П., Пивоваревич Л.П., Чиркова И.В. // Вестн. Харьковского гос. ун-та. 1984. № 260. С. 69.
13. Brandrup J., Immergut E.H. // Polymer Handbook. New York: Wiley, 1975. P. 1385.
14. Scholtan W. // Makromol. Chem. 1952. B. 7. S. 209.
15. Изюмников А.Л., Минеев Л.В., Масленников В.А., Сидорина Л.С., Самсонова О.С., Абкин А.Д. // Высокомолек. соед. А. 1988. V. 30. № 5. С. 1030.
16. Scholtan W. // Makromol. Chem. 1954. B. 14. S. 169.
17. Francois J., Sarazin D., Schwartz T., Weill G. // Polymer. 1979. V. 20. № 8. С. 969.
18. Schwartz T., Francois J., Weill G. // Polymer. 1980. V. 21. № 3. С. 247.
19. Collinson E., Dainton F.S., McNaughton G.S. // Trans. Faraday Soc. 1957. V. 53. С. 476.
20. Burillo Guillermina, Ogawa Takeshi // Makromol. Chem. Rapid Commun. 1980. B. 1. № 9. S. 545.

21. *Torchilin V.P.* // Adv. Drug Deliv. Rev. 1987. № 1. P. 41.
22. *Лопатин В.В., Матиаишвили Г.Г.* Пат. 96110801/14 Россия // Б. И. 1999. № 7.
23. *Лукомский Г.И., Шехтер А.Б., Эль-Саид А.Х., Лопатин В.В., Миронова О.А., Чочия С.А.* // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. 1997. № 1. С. 75.
24. *Лукомский Г.И., Чочия С.Л., Миронова О.Ю.* Пат. 96110799/14 Россия // Б. И. 1999. № 22.
25. *Шехтер А.Б., Лопатин В.В., Чочия С.Л., Матиаишвили Г.Г.* // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. 1997. № 2. С. 11.
26. *Ottenbrite R.M.* // Anionic Polymeric Drugs / Ed. by Donaruma L.G., Ottenbrite R.M., Vogl O. New York: Wiley, 1978.
27. *Ottenbrite R.M., Regelson W., Kaplan A., Carchman R., Morahan P., Munson A.* // Polymeric Drugs / Ed. by Donaruma L.G., Vogl O. New York; San Francisco: Acad. Press, 1978.
28. *Синани В.А., Кислая Л.Н., Валуев Л.И.* // Вестн. МГУ. Сер. Химия. 1994. Т. 35. № 2. С. 194.
29. *Красильникова О.К., Сарылова М.Е., Волков А.В., Валуев Л.И., Обыденнова И.В.* // Высокомолек. соед. Б. 1991. Т. 33. № 3. С. 202.
30. *Абрамова Л.И., Байбурдов Т.А., Григорян Э.П., Зильберман Е.Н., Куренков В.Ф., Мягченков В.А.* Поликриламид. М.: Химия, 1992.
31. *Серовицкая М.Н., Хомдова Ю.А.* Полиакриламид. Киев: Техника, 1969.
32. *Аскадский А.А.* Лекции по физикохимии полимеров. М.: МГУ, 2001.
33. *Аскадский А.А., Кондращенко В.И.* Компьютерное материаловедение полимеров. М.: Научный мир, 1999.
34. *Askadskii A.A.* Computational Materials Science of Polymers. Cambridge. Cambridge Int. Sci. Publ., 2003.
35. *MacWilliams D.C.* Functional Monomers Acrylamide and Other alpha, beta Unsaturated Amides / Eds. by Vacum R.H., Nyquist E.B. New York: Marcel Dekker, 1973.
36. *Minsk L.M., Kotlarchic C., Meyer C.* // J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed. 1974. V. 12. № 1 P. 133.
37. *Haas H.G., MacDonald R.L.* // J. Polym. Sci. A-1. 1971. V. 9. № 12. P. 3583.

## Structure and Properties of Polyacrylamide Gels for Medical Applications

V. V. Lopatin\*, A. A. Askadskii\*\*, A. S. Peregudov\*\*, V. A. Berestnev\*, and A. B. Shekhter\*\*\*

\*Federal State Unitary Enterprise, Research Institute of Resin and Latex Articles,  
Krasnobogatyrskaya ul. 42, Moscow, 107564 Russia

\*\*Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences,  
ul. Vavilova 28, Moscow, 119991 Russia

\*\*\*Sechenov Medical Academy,  
Malaya Pirogovskaya 2/6, Moscow, 119081 Russia

**Abstract**—The effect of conditions of preparing hydrogels based on acrylamide and N,N'-methylenebisacrylamide on the properties of gels in the condensed state and the structure of polymer networks was studied by IR and NMR spectroscopy, thermomechanical analysis, and computer simulation. It was shown that, depending on the synthesis conditions, gels exert different physiological impacts on body tissues. After additional heat treatment of a gel in an autoclave and additional  $\gamma$ -irradiation, the crosslink density of the network somewhat increases and alkene moieties arise in its chains. Basic potentialities for using the title gels in medicine were estimated by histology and morphology. It was demonstrated that the hydrogel formed upon additional  $\gamma$ -irradiation and heat treatment holds its shape for a long time after having been implanted into a living organism. The tissue responsiveness for implantation of this gel is minimum: after 3–90 days, the inflammatory reaction is weak, the fibroblastic response is weakly pronounced, and a capsule remains thin after prolonged occurrence of the gel in the organism (6–9 months). The resorption of the gel by macrophages and its intergrowth by the connective tissue take place very slowly and only in the near-capsule layer.