

но-индуцированной флуоресценции оказался эффективным инструментом в отношении изучения патологических изменений в миокарде в условиях ишемии и реперфузии.

Благодарности

Средства на проведение исследования были получены по программе УМНИК из Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере. Исследование выполнено в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний».

Литература

1. Шальнова С.А., Деев А.Д. Ишемическая болезнь сердца в России: распространенность и лечение (по данным клинико-эпидемиологических исследований) // Тер. архив. – 2011. – № 1. – С. 7–12.
2. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Демографические тенденции в Российской Федерации: вклад болезней системы кровообращения // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – № 1. – С. 5–10.
3. Kristensen S.D., Laut K.G., Fajadet J., Kaifoszova Z. et al. Reperfusion therapy for ST elevation acute myocardial infarction 2010/2011: current status in 37 ESC countries // Eur. Heart J. – 2014. – Vol. 35. – P. 1957–1970.
4. Бокерия Л.А. Сердечно-сосудистая хирургия – 2014; Болезни и аномалии системы кровообращения / Л.А. Бокерия, Р.Г. Гудкова. – М.: НЦССХ им. А.И. Бакулева РАМН, 2015. – 226 с.
5. Караськов А.М., Юргель Е.Н., Каменская О.В. и др. Особенности микроциркуляторного кровотока камер сердца до и после операции у пациентов с аортальным стенозом в сочетании с ишемической болезнью сердца // Комплексные пробл. серд.-сосуд. заболеваний. – 2012. – № 2. – С. 17–21.
6. Ардашев В.Н. Возможности объективизации результатов реабилитации больных ИБС после операции аортокоронарного шунтирования // Клини. мед. – 1998. – № 10. – С. 23–26.
7. Аверина Т.Б. Искусственное кровообращение // Анн. хир. – 2013. – № 2. – С. 5–12.
8. Сайфутдинов Р.Г., Мухаметшина Г.А., Галлямов Н.В. Новые ишемические синдромы: ишемическое прекодиционирование, стэннинг и гибернация // Практич. мед. – 2006. – № 16. – С. 12–14.
9. Popov A.Y., Salmin V.V., Fursov A.A. et al. Automated laser spectrofluorimeter for monitoring of myocardial metabolism // Proceedings of SPIE. – 2006. – P. 6284: 6284J.
10. Тучин В.В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1998. – 302 с.
11. Козинцев В.И., Белов М.Л., Городничев В.А., Федотов Ю.В. Основы количественного лазерного анализа. – М.: Изд-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2003. – 352 с.

Поступила 18.02.2016

Сведения об авторе

Сергеева Евгения Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии НИИ КПССЗ.

Адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6.
E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru.

УДК 616.1-089.819.843-77:615.461:577.1

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МАТРИЦ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ ДЛЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Д.К. Шишкова, М.В. Насонова, Ю.А. Кудрявцева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово
E-mail: shidk@kemcardio.ru

INVESTIGATION OF BIODEGRADABLE SCAFFOLDS FOR CARDIOVASCULAR SURGERY

D.K. Shishkova, M.V. Nasonova, Yu.A. Kudryavtseva

Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", Kemerovo

Проведена оценка сроков деградации матриц, изготовленных из биodeградируемых полимеров, и морфологических изменений структуры тканей, окружающих имплантат, путем имплантации лабораторным животным. Исследование направлено на поиск полимерных композиций, пригодных для хирургии, с целью дальнейшего применения их в конструкции биodeградируемых стентов, сердечно-сосудистых заплат и других имплантатов, которые в итоге замещаются собственными тканями организма. Были исследованы следующие полимеры: сополимер полигидроксипропиридата с оксидом кальция (ПГПВ) с молекулярной массой 404 кД, и полимерные компози-

ции – ПГБВ+поли-D,L-лактид и ПГБВ+поликапролактон в объеме 10% по массе полимера. Изготовлены матрицы двумя способами: методом полива и методом электроспиннинга. Матрицы, приготовленные методом полива, обладали более низкими темпами биodeградации, в отличие от матриц аналогичного состава, приготовленных методом электроспиннинга. Уменьшение сроков деградации матрицы на основе полигидросибутирата-оксивалерата наблюдали при добавлении полилактида в ее состав, а включение поликапролактона замедляло темп деградации матрицы.

Ключевые слова: электроспиннинг, поли-D, L-лактид, полигидроксибутират/валерат, поликапролактон, имплантация, биodeградация.

The search for polymer compositions for the preparation of biodegradable stents, cardiovascular patches, and other surgical implants is particularly important nowadays. In this study, we assessed the degradation rate of the scaffolds prepared from biodegradable polymers and evaluated the morphological alterations of the tissues surrounding the implant in animal model. We tested polyhydroxybutyrate/valerate (PHBV, molecular mass of 404 kDa), PHBV+poly(D,L-lactide), and PHBV+10% polycaprolactone (PCL). In addition, we compared the scaffolds prepared by either casting or electrospinning. The degradation rate of the scaffolds prepared by casting was significantly lower than that of their electrospun counterparts. In addition, the scaffold degradation rates of PHBV+poly(D,L-lactide) and PHBV+10% PCL compositions were higher and lower rate compared to PHBV alone.

Key words: electrospinning, poly-D, L-lactide, polyhydroxybutyrate/valerate, polycaprolactone, implantation, biodegradation.

Введение

В сердечно-сосудистой хирургии широко применяют протезы сосудов малого диаметра, искусственные клапаны сердца, сердечно-сосудистые заплатки, стенты, которые изготавливают главным образом из полимеров (полиэфиров, полиуретанов, полиолефинов, полиамидов, фторполимеров) [7]. Трендом последних лет является разработка изделий на основе биodeградируемых полимеров, таких как полиоксикапролаты, полилактиды и т.п.

В то же время, несмотря на достигнутые успехи в области синтеза и модификации полимерных материалов, большинство исследователей считают, что на данный момент ни один из них не отвечает полностью всем требованиям, которые предъявляются к материалам, рассчитанным на длительный контакт с кровью [1–5]. Они должны обладать комплексом специфических свойств: биосовместимостью, тромборезистентностью, антимикробностью, оптимальными прочностными характеристиками [3].

Для оценки безопасности использования полимеров проводят эксперименты *in vivo*. Главным критерием, который используется при оценке биосовместимости имплантируемого материала, является тканевая реакция на имплантат [6]. Он должен функционировать в организме в течение заданного периода времени, исходя из места имплантации.

Процесс замещения имплантата живой тканью состоит из двух этапов, которые заключаются в биodeградации полимерной конструкции и регенерации ткани, причем их скорость должна в значительной степени совпадать. Именно поэтому изучение согласованности данных процессов является важным этапом разработки полимерных композиций для хирургии. Путем подбора комбинаций биodeградируемых полимеров и разработок новых технологий изготовления изделий для сердечно-сосудистой хирургии придаются необходимые свойства [7].

Цель работы: оценить изменения морфологической структуры и динамики деградации биodeградируемых полимерных матриц, имплантированных лабораторным животным.

Материал и методы

Для эксперимента были изготовлены образцы матриц из биodeградируемых полимеров: ПГБВ и полимерных композиций ПГБВ+поли-D,L-лактид и ПГБВ+поликапролактон (“Sigma-Aldrich”). ПГБВ с молекулярной массой 404 кД был синтезирован в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН (Пушино).

Добавление полимеров поли-D,L-лактида (PLA) и поликапролактона (PCL) проходило в объеме 10% по массе полимера. В качестве растворителя использовали хлороформ.

Матрицы получали двумя способами: методом полива и методом электроспиннинга. Первый метод – полив 3%-го раствора полимера в хлороформе на обезжиренную поверхность стекла с последующим испарением растворителя. Второй метод – метод электроспиннинга – Nanon-01A (MECC Inc., Япония). Параметры электроспиннинга: 8%-й раствор полимера, напряжение 18 Кв, скорость подачи раствора 0,4 мл/ч. Методом полива было изготовлено 6 образцов (по 2 образца ПГБВ, ПГБВ/PLA, ПГБВ/PCL). Методом электроспиннинга было также приготовлено 6 образцов матриц аналогичного состава. Всего было изготовлено 12 образцов. Размеры готовой матрицы – 5х4 см.

Эксперименты проводили на самцах крыс линии Wistar. Для изучения динамики биodeградации *in vivo* образцы имплантировали крысам весом 80–100 г подкожно на сроки 30, 60 суток, по 10 животных на точку. Всего было прооперировано 60 животных. Вдоль позвоночника производили по 2 разреза длиной 0,5 см, тупым способом формировали слепой канал длиной 1,5–2,0 см, куда помещали образец матрицы размером 7х7 мм. Всего было имплантировано 120 образцов матриц, т.е. 60 шт., приготовленных методом полива, и 60 шт., приготовленных методом электроспиннинга.

После окончания эксперимента образцы иссекали вместе с окружающими тканями, проводили фиксацию в 4%-м растворе нейтрального формалина с последующим заключением в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван Гизон, изучали на световом микроскопе “AXIO Imager.A1” (Carl Zeiss, Германия) при

увеличении 100, 200, 400 раз.

Все манипуляции с животными проводили под ингаляционным эфирным наркозом в условиях чистой операционной с соблюдением правил проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ № 1179 Минздрава СССР от 10.10.1983 г., Приказ № 267 Минздрава РФ от 19.06.2003 г.).

Результаты и обсуждение

При удалении материала из подкожных карманов не было отмечено ни одного случая репозиции исследуемых образцов, также отсутствовала местная воспалительная реакция со стороны окружающих тканей.

При гистологическом изучении эксплантированных матриц наблюдали воспалительную реакцию в тканях, окружающих образцы из ПГБВ и ПГБВ+PLA, которая была однотипна и проявлялась в виде умеренной и очаговой лимфогистиоцитарной инфильтрации.

Образцы ПГБВ+PLA и ПГБВ+PCL были слабо спаяны с окружающими тканями и окружены тонкой фиброзной капсулой, что согласуется с литературными данными. Формирование капсулы вокруг имплантированного материала обусловлено естественной реакцией организма на инородное тело. Матрицы на основе биополимеров, как и любое инородное тело, покрываются валом из лейкоцитов: сначала нейтрофилов и лимфоцитов, далее эти клетки заменяются моноцитами и макрофагами, постепенно туда мигрируют фибробласты, которые дифференцируются в фиброциты и продуцируют коллаген. В итоге матрица вместе с макрофагальным валом покрывается соединительнотканной капсулой.

Матрицы, приготовленные методом электроспиннинга, обладали более высокими темпами биодеградации в отличие от матриц аналогичного состава, приготовленных методом полива. Через 30 суток после имплантации образцы матриц (полив) ПГБВ (n=10) и ПГБВ+PLA (n=10) сохраняли целостность структуры пленки в капсуле, признаки деградации образцов отсутствовали. В то же время матрицы, приготовленные из данных полимеров методом электроспиннинга (n=20), подверглись значительной деструкции: образцы обладали рыхлой структурой, граница матрицы и фиброзной капсулы практически отсутствовала, в толще образца присутствовали коллагеновые волокна, визуализировались ядра фибробластов. Наличие этих структур свидетельствует о биодеградации матрицы, происходит замещение волокон мембраны соединительной тканью. Деградация матриц ПГБВ+PCL происходила неравномерно и существенно медленнее как в случае полива (n=10), так и в случае метода электроспиннинга (n=10).

Через 60 суток после имплантации матрицы ПГБВ+PCL, изготовленные методом электроспиннинга (n=10), фрагментарно заполнились соединительной тканью. Образцы того же состава (n=10), изготовленные методом полива, практически не замещались соединительной тканью. Наиболее выраженная воспалительная реакция в течение всего периода наблюдения отмечалась при имплантации матриц на основе гомополимера (ПГБВ), n=20.

Образцы, имеющие в своем составе два полимера, продемонстрировали в ходе эксперимента лучшие биосовместимые свойства. Состав матриц влияет на скорость биодеградации: добавление PLA в состав матриц на основе ПГБВ приводит к снижению сроков деградации, а добавление PCL замедляет темп деградации.

Выводы

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что биосовместимые свойства матриц зависят от состава композиции, а также от способа получения.

Образцы, приготовленные методом электроспиннинга, обладали более высокими темпами биодеградации, в то время как матрицы того же состава, приготовленные методом полива, обладали низкой скоростью деградации.

Включение PLA в состав матриц на основе ПГБВ позволяет сократить сроки деградации, а добавление PCL замедляет скорость деградации матрицы.

Результат оценки морфологической структуры тканей, окружающих матрицы, показал минимальную ответную реакцию организма на имплантацию, которая является закономерной физиологической реакцией.

Литература

1. Волова Т.Г. и др. Биомедицинский потенциал разрушаемых полигидроксикапролатов: экспериментально-клинические исследования. – Красноярск: Версо, 2014. – 115 с.
2. Майбородин И.В., Ковынец Н.Н., Добрякова О.Б. Нарушения микроциркуляции как причина капсулярной контрактуры после увеличивающей наплатки // Хирургия. – 2007. – № 3. – С. 49–53.
3. Новикова С.П., Салохединова Р.Р., Лосева С.В. Обеспечение биологической безопасности имплантируемых медицинских изделий // Бюл. НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – 2012. – Т. 13, № 2. – С. 64–69.
4. Ткачук О.С., Волошина Е.С. Перспективы применения биодеградируемых полимеров на основе полигидроксикапролата в медицине // Молодой организатор здравоохранения: сб. науч. ст. студентов и молодых ученых, посвящ. памяти проф. В.К. Сологуба. – 2013. – С. 337–340.
5. Федоров М.Б. Антимикробная активность хирургических нитей, модифицированных полигидроксикапролатом, со структурой ядро-оболочка // Прикл. биохим. и микробиол. – 2007. – Т. 43, № 6. – С. 685–690.
6. Anderson J.M., Rodriguez A., Chang D.T. Foreign body reaction to biomaterials // Seminars in immunology. – 2008. – Vol. 20, No. 2. – P. 86–100.
7. Hastings G.W. Cardiovascular Biomaterials. – Springer Science & Business Media, 2012.

Поступила 19.02.2016

Сведения об авторах

Шишкова Дарья Кирилловна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной и клинической кардиологии НИИ КПССЗ.

Адрес: 650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, 6.

E-mail: shidk@kemcardio.ru.

Насонова Марина Владимировна, научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспери-

ментальной и клинической кардиологии НИИ КПССЗ.

Адрес: 650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, 6.

E-mail: nasomv@kemcardio.ru.

Кудрявцева Юлия Александровна, докт. биол. наук, за-

ведующая отделом экспериментальной и клинической кардиологии НИИ КПССЗ.

Адрес: 650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, 6.

E-mail: kudrua@kemcardio.ru.