

## ПОЛУЧЕНИЕ БИМЕДИЦИНСКИХ КОНСТРУКЦИЙ В ВИДЕ МАТРИКСОВ ИЗ ПГА ДЛЯ ЗАДАЧ КЛЕТОЧНОЙ И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Шумилова А.А.

Научный руководитель – д. б. н. Шишацкая Е.И.

*Сибирский федеральный университет*

Исследования в области материалов медицинского назначения являются одним из актуальных направлений молекулярной биологии, химии, биофизики и медицины. При разработке медицинских изделий используют широкий круг материалов естественного и искусственного происхождения, в том числе, синтетические полимеры, биополимеры, металлы, керамику, гидроксипатиты, биоткани, основанные на комбинированном использовании биоматериалов и функционирующих клеток различных тканей и органов.

В настоящее время в экспериментальных и клинических работах упор делается на применении пористых конструкций из биополимеров с заданными свойствами. Используемый междисциплинарный подход направлен в первую очередь на создание новых биоконпозиционных материалов для восстановления утраченных функций отдельных тканей или органов в целом. Основные принципы данного подхода заключаются в разработке и применении при имплантации в поврежденный орган или ткань носителей из биodeградирующих материалов, которые используются в сочетании либо с донорскими клетками или с биоактивными веществами. Имплантируемые вместе с клетками в организм человека имплантаты-носители, играют роль каркаса, обеспечивают поддержание, рост и дифференцировку клеток, а также стимулируют регенерацию поврежденных тканей и защиту от иммунологической реакции организма. Наиболее перспективными, среди материалов, разрабатываемых и исследуемых, применительно к этим задачам, являются - полигидроксиалканоаты (ПГА), линейные полиэфиры микробиологического происхождения. Полигидроксиалканоаты самостоятельно могут выполнять роль каркаса (матрикса), а также использоваться в сочетании (композиции) с известными биоматериалами для улучшения их биосовместимости и физико-механических свойств.

Цель настоящей работы: получение из полигидроксиалканоатов биомедицинских конструкций в качестве матриксов для задач клеточной и тканевой инженерии.

В качестве объектов исследования были взяты образцы гомогенного полимера  $\beta$ -оксимасляной кислоты (ПГБ) и двухкомпонентного сополимеры  $\beta$ -оксибутирата и  $\beta$ -оксивалерата (ПГБ/ПГВ) с включением оксивалерата 11,2, 23,1 и 33 мол %., синтезированные по технологии в Институте биофизики СО РАН, и коллагеновая гемостатическая губка (ОАО "Лужский з-д Белкозин"). Объемные пористые матриксы коллаген-ПГБ готовили методом пропитки коллагеновой губки в 1%(0,1 г/ 10 мл), 3%(0,3 г/10мл) и 5%(0,5 г/10мл) растворах полимера. Коллаген не растворяется и не теряет свою исходную форму в течение как минимум 1 часа, в тоже время, достаточное для равномерной пропитки губки, составило 30 минут. При этом блестящая поверхность коллагена становится матово-молочной. Исходная коллагеновая губка имела размеры основания 10x5 мм и высоту до 10 мм. После пропитки различными концентрациями раствора полимера образцы сушили на воздухе 24 ч. Для изучения свойств матриксов измеряли такие показатели, как влагопоглощение и суммарная пористость. Наибольший показатель суммарной пористости имела

коллагеновая губка, пропитанная 1% раствором полимера  $6,52 \pm 0,13 \text{ См}^3/\text{г}$ , чем при пропитывании 3% и 5% раствором того же полимера. Влагопоглощение коллагеновой губки, не пропитанной полимером, близко к 100% (98,6%). В гибридном матриксе коллаген-ПГБ (пропитанный 3% и 5% полимером) это значение немного снижается ( $83,9 \pm 0,20\%$ ;  $89,5 \pm 0,15\%$ ). Среди используемых методов стерилизации в работе, доказано, что наиболее подходящий метод - это сухо-жаровая стерилизация, которая не вызывает изменения внешнего вида и структуры матрикса. Автоклавирование вызывает сильную деформацию коллаген-полимерного матрикса, а без полимера – полное разрушение.

Засев клеток, фибробластов мыши (линии НИИ 3Т3) проводили из расчета 60 тыс.кл. на 1 губку. В каждой культуральной чашки Петри (Д 60 мм) находилось по 3 губки с определенным содержанием полимера (1%, 3%, 5%) в 10 мл среды (ДМЕМ, сыворотка теленка 10 %, антибиотик 2 %, все реактивы от Sigma-Aldrich).

Подсчет клеток проводили на 7 и 14 день. Перед этим губки обрабатывали трипсином (по 2 мл на 1 губку) в течение 5 минут, затем трипсин был нейтрализован 2 мл среды; брали по 0,5 мл клеточной суспензии, к которым добавляли 0,5 мл красителя (трипановый синий) затем подсчитывали клетки в камере Горяева. При подсчете клеток, на 7 день их число на композитном матриксе с 1% включением ПГБ составило около 200 т. кл., на 3 % - 165 т. кл., на 5% - 155 т. кл., на 14 день - количество клеток на всех композитных матриксах было примерно одинаковое - около 500 т.кл. Полученные данные показали, что сам по себе коллаген более гидрофильный, клетки к нему прикрепляются лучше, но он мягкий и менее прочный, чем ПГА, поэтому для имплантатов, используемых в костной и тканевой хирургии, создание таких композитных матриксов на основе коллагена и ПГА, является одним из возможных решений многих проблем восстановления поврежденных тканей и органов.

Таким образом, экспериментальным путем была получена серия композитных матриксов на основе полигидроксibuтирата и коллагена; исследованы структура и свойства. Установлено, что наполнение коллагена полимером существенно влияет на свойства поверхности композита, увеличивая, тем самым его прочность и температурные характеристики. Композитные матриксы коллаген/полимер, помимо высокой пористости, характеризуются и высоким показателем влагопоглощения, близким к 100%. Показана применимость общепринятых методов стерилизации для разработанных гибридных конструкций. Коллаген/полимерные матриксы могут служить в качестве носителя, обеспечивающего поддержание, рост и дифференцировку клеток.