

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ, СМАЧИВАЕМОСТИ И ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ 3-Д МАТРИКСОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРА ПКЛ С ЧАСТИЦАМИ ГА, Si-ГА, Sr-ГА

А.С. Звягин, С.Н. Городжа, Д.С. Сыромотина

Научный руководитель: доцент, к. ф.-м. н. Р. А. Сурменев
Национальный исследовательский Томский политехнический университет
E-mail: asz31@tpu.ru

Введение

В последнее время в медицине остро стоит вопрос о создании искусственных органов и тканей, способных к биорезорбции. Поэтому основной акцент новейших биомедицинских направлений все более смещается в сторону поиска технологий, ориентированных на конструирование биоискусственных органов на основе биоразрушающихся полимерных материалов. Конструирование трехмерных (3-Д) структур методом электроформирования позволяет получать 3-Д матриксы из микроволокон, которые способствуют клеточной адгезии, пролиферации и обеспечивают формирование соответствующих условий для регенерации тканей. Как правило, материал, используемый для формирования 3-Д матрикса, должен обладать хорошей биосовместимостью, способностью к биологическому разложению, необходимыми механическими свойствами и легкостью в изготовлении. Поликапролактон (ПКЛ) является биodeградируемым полимером с хорошими механическими характеристиками, но с не достаточной биосовместимостью. Улучшить биосовместимость можно путем приближения химического состава материала к составу костной ткани. Одним из способов является добавление наночастиц гидроксиапатита (ГА) или кремний и стронций замещенного ГА (Si-ГА и Sr-ГА) в структуру 3-Д матриксов путем добавления наночастиц в полимерный раствор на стадии формирования матриксов.

Цель данной работы заключалась в исследовании структуры, смачиваемости и цитотоксического воздействия полимерных 3-Д матриксов из поликапролактона (ПКЛ) с добавлением частиц гидроксиапатита (ГА) кремний-замещенного гидроксиапатита (Si-ГА) и гидроксиапатита со стронцием (Sr-ГА) сформированных методом электроформования.

Материалы и методы

Для изготовления скэффолдов использовался как чистый полимер ПКЛ массой 80 000 а.е.м. марки ALDRICH, так и с добавлением наночастиц ГА, Si-ГА и Sr-ГА. В качестве растворителя был использован хлороформ плотностью 1,48 г/мл. Концентрация раствора составляла 9%. Концентрация наночастиц составляла 10 и 15%. В работе были получены 3-Д матриксы двух различных структур: перекрестной (random-oriented, r/o) и параллельной (well-aligned, w/a) структуры.

В целях изучения структуры и размеров волокон, полученных образцов, была проведена сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) на микроскопе JEOL JSM-7500F (США).

Определение смачиваемости поверхности полимеров происходило путем измерения контактного угла на приборе DataPhysics OCA – Series (Германия). Расчет проводился по модели лежащей капли (Water (Strom)), которая наносилась на поверхность образца с помощью микрошприца объемом 2 мкл. Для измерения поверхностной энергии использовалось две жидкости: вода и глицерин, расчет проводился по модели OWRK.

Цитотоксическое воздействие образцов проводилось путем оценки жизнеспособности клеток с помощью колориметрического МТТ-теста. Культивирование клеток NCTC L929 проводилось в течении 24 часов. Количество восстановленного формазана измерялось на фотометре модели 680 (BIO-RAD, США) при длине волны 540 нм.

Результаты и обсуждения

Результаты СЭМ показали, что волокна матриксов, сформированные из чистого полимера ПКЛ, имеют однородную структуру с диаметром волокон до 10 мкм. Волокна с добавлением частиц имеют неоднородную структуру с диаметром от 1 до 5 мкм и с агломерациями частиц 20-40 мкм.

Результаты измерения контактного угла смачивания и поверхностной энергии для перекрестных 3-Д матриксов приведены на рисунках 1–2.

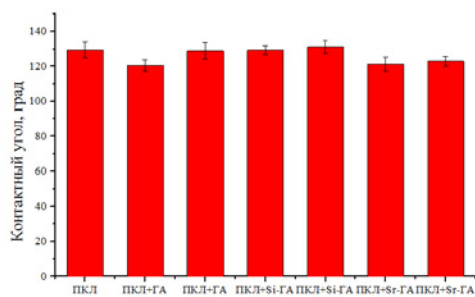


Рис. 1. Контактный угол перекрестных 3-Д матриц

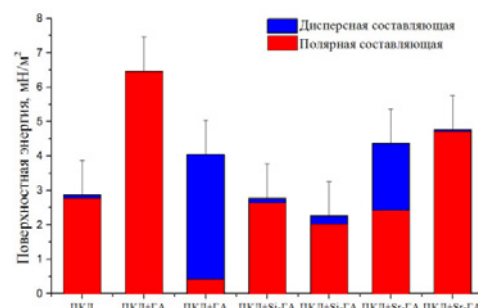


Рис. 2. Поверхностная энергия перекрестных 3-Д матриц

3-Д матрицы всех составов имеют гидрофобную природу. Для всех образцов характерна низкая поверхностная энергия, что объясняет очень плохую смачиваемость материала. Добавление частиц приводит к увеличению поверхностной энергии, что наблюдается авторами в работе [1]. Практически для всех образцов характерна очень малая дисперсная составляющая, скорее всего это проявление наличия пор и воздуха. Пористость у матриц с параллельной структурой волокон меньше чем у перекрестных, поэтому у таких образцов иногда проявляется дисперсная составляющая материала. Наибольшая поверхностная энергия наблюдается у образцов с добавлением наночастиц ГА. При этом для матриц с концентрацией ГА – 10% характерна самая высокая полярная составляющая поверхностной энергии из всех представленных составов. Это объясняют данные МТТ-теста (рис. 3), где наилучшие результаты по приживаемости клеток показал именно образец с составом PCL+ГА-10%.

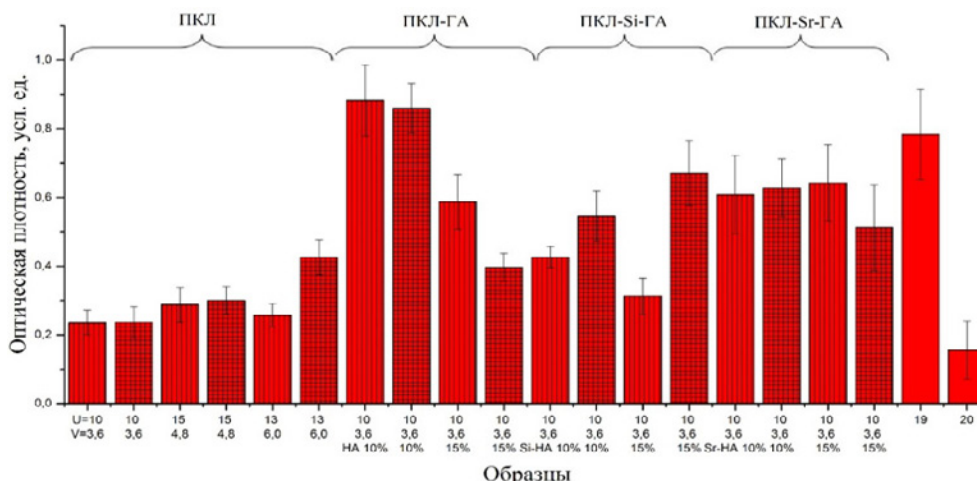


Рис. 3. Метаболическая активность клеток NCTC L929 по результатам МТТ-теста при инкубации 24 ч с 3-суточными вытяжками из материалов, 19 – контроль, 20 – 10% ДМСО

Образцы из чистого ПКЛ показали высокую цитотоксичность, на что указывают и другие авторы [2]. Также из рисунка видно, что концентрация частиц влияет на выживаемость клеток, причем различные типы частиц имеют различную оптимальную концентрацию.

Заключение

Все 3-Д матрицы обладают гидрофобной поверхностью и низкой поверхностной энергией. Наличие частиц ГА и Sr-ГА незначительно улучшает смачиваемость матриц, за счет увеличения полярной составляющей поверхностной энергии. Так же наблюдается прямая зависимость между поверхностной энергией матриц и метаболической активностью клеток на них.

Список литературы

1. Luong N.D., Moon I.S., Doo D.S. et al. Surface modification of poly (L-lactide) electrospun fibers with nanocrystal hydroxyapatite for engineered scaffold applications // Materials Science and Engineering C. – 2008. – Vol. 28. – P. 1242–1249.
2. Pankajakshan D., Krishnan K., Krishnan L.K. Vascular tissue generation in response to signaling molecules integrated with a novel poly (ϵ -caprolactone) – fibrin hybrid scaffold // Tissue Engineering and Regenerative Medicine. – 2007. – Vol. 1. – P. 389–397.