

ВЛИЯНИЕ МАКРОФАГОВ НА ПРОЦЕСС ДЕГРАДАЦИИ ПОЛИМЕРА

А.С. Шляхтун, Е. Шаповалова

Научный руководитель: Д. м. н., профессор Чурина Елена Георгиевна

Национальный исследовательский Томский государственный университет

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: lonelynw59@gmail.com

THE EFFECT OF MACROPHAGES ON POLYMER DEGRADATION

Shlyahatun A.S., Shapovalova Ye.

Scientific Supervisor: Prof., Dr. Churina Ye. G.

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

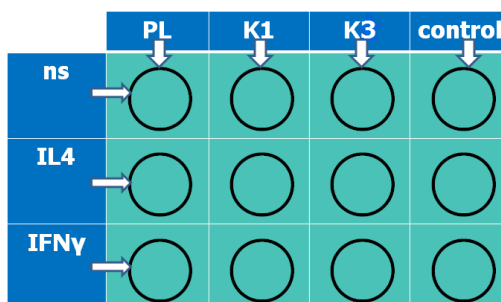
Lenina avenue, 36, 634050

E-mail: lonelynw59@gmail.com

Abstract. *Nowadays researches devoted to implantation are of great interest. The more attention is paid to methods of investigation of implants' biocompatibility and, in case of biodegradable implants, of lasting of degradation process. Both of these factors are determined with organism's immune response provided by the system of mononuclear phagocytes, starting from monocytes, and among them especially macrophages that rule the processes of inflammation and degradation of xenogenous material. Knowledge of macrophages' reaction on the object allows to evaluate the opportunities of using the material in living organisms and, for biodegradable implants, time of decomposition under in vivo conditions. The aim of the study was to investigate an influence of macrophages, stimulated in different ways, on the process of degradation of biodegradable polymer polylactide (pure and in composition with hydroxiapatite with 90 and 70 percent of polylactide, respectively) by examining the decrease of polymer's molecular weight. The result was supposed to show the dependence of molecular weight's decrease on different types of macrophages' stimulation.*

Введение. В биомедицинских исследованиях активно развиваются направления, связанные с имплантацией и протезированием, ведется постоянный поиск и разработка новых материалов, способных как можно более полноценно компенсировать повреждение или утрату морфологической структуры организма. Особое значение имеет исследование биосовместимости компонентов, а для имплантатов на основе биоразлагаемых полимерных композитов - времени, необходимого для полной деструкции внедряемого композита. За механизмы реагирования на чужеродный объект ответственны в первую очередь моноциты, дифференцирующиеся в макрофаги [1, 2,], которые концентрируются в очаге внедрения и начинают вырабатывать медиаторы воспаления, привлекающие другие макрофаги и способствующие процессу клеточной инфильтрации инородного тела. Биосовместимые материалы не должны вызывать резкого снижения метаболической активности макрофагов, однако в зависимости от биоразлагаемости имплантата клетки фагоцитируют материал либо инкапсулируют его, формируя гранулему [3]. В случае биоразлагаемого полимера полилактида, представленного в настоящей работе, имеет большое значение срок разложения материала в организме. **Цель исследования:** установить влияние макрофагов и состава композиционных материалов на основе полилактида (ПЛ, PL) и гидроксиапатита (ГА) на процесс деградации полимера в условиях *in vitro*.

Материалы и методы. Для получения композитов использовали ПЛ в виде волокон и ГА в виде мелкодисперсного порошка в соотношении 90% мас. ПЛ (K1) и 70% мас. ПЛ (K3). ГА ресуспендировали в растворе ПЛ в хлороформе (10 мл хлороформа на 1 г полимера) при постоянном перемешивании на магнитной мешалке при 40° С, раствор выдерживали в ультразвуковой ванне в течение 20 минут, затем высаживали в пятикратном по отношению к хлороформу избытке изопропилового спирта на магнитной мешалке при 0° С. Полученные композиты высушивали, измельчали и формовали в таблетки массой 0,3 г, диаметром 2 см и толщиной 1 мм при помощи гидравлического пресса.



Первичные моноцитарные макрофаги выделяли из тромболойкоцитарной массы двух индивидуальных доноров по методике, описанной Грачевым А.Н. и др. [4]. В 12-ти луночный планшет помещали простерилизованные в этаноле образцы полилактида и композиционных материалов. Для оценки жизнеспособности макрофагов использовали клетки, культивированные на пластике. В лунки вносили по 2 мл клеточной фракции с концентрацией 1×10^6 клеток/мл, ресуспендированной в бессывороточной среде X-VIVO, в часть лунок добавляли стимулирующие агенты (IFN γ , IL4).

Планшеты выдерживались в CO₂-инкубаторе при 37°С в течение 42-х дней. Среда удалялась, образцы хранились при температуре 4° С. Из композитов ПЛ экстрагировали хлороформом в аппарате Сокслета. Определение молекулярных масс (ММ) полимера проводили методом ГПХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 с рефрактометрическим детектором (Agilent -Technologies, США) с применением программного обеспечения «AgilentGPC-AddonRev».

Результаты. На гистограммах 1 и 2 отображены ММ исходного ПЛ (100000) и ПЛ, извлеченного из образцов, выдержанных в клеточной культуре, при различных составах образцов и видах стимуляции. Из гистограммы 1 можно заключить, что интенсивность фагоцитоза при различных видах стимуляции неодинакова для различных доноров. В 50% случаев наибольшее снижение ММ наблюдается при провоспалительной стимуляции IFN γ , в 50% случаев оно больше, чем в случае нестимулированных (NS) клеток, в 66,7% случаев больше, чем в случае стимуляции противовоспалительным IL4. В 66,7% случаев ММ ПЛ в NS системах превышает ММ в системах, стимулированных IL4. Из гистограммы 2 видно, что скорость фагоцитоза выше в чистом ПЛ, чем в композитах, во всех случаях ММ образца ПЛ существенно меньше соответствующих значений для K1 и K3. В 66,7% случаев медленнее всего уменьшается ММ ПЛ в композите K3. Таким образом, при одновременном исследовании одного донора и типа образца (ПЛ, K1, K3) определенной закономерности нами выявлено не было, что свидетельствует о необходимости проведения персонифицированных исследований для каждого донора.

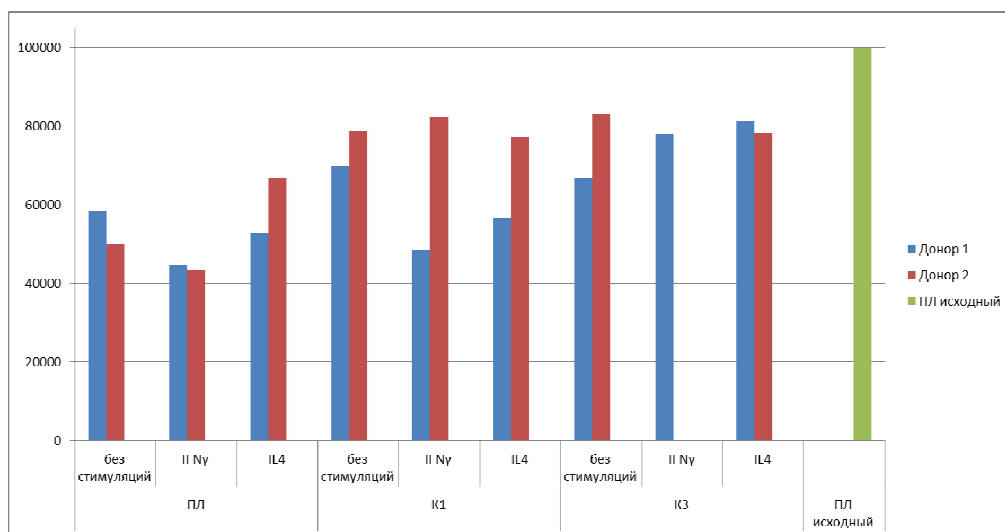


Рис. 2. Изменение ММ ПЛ в зависимости от типа материала

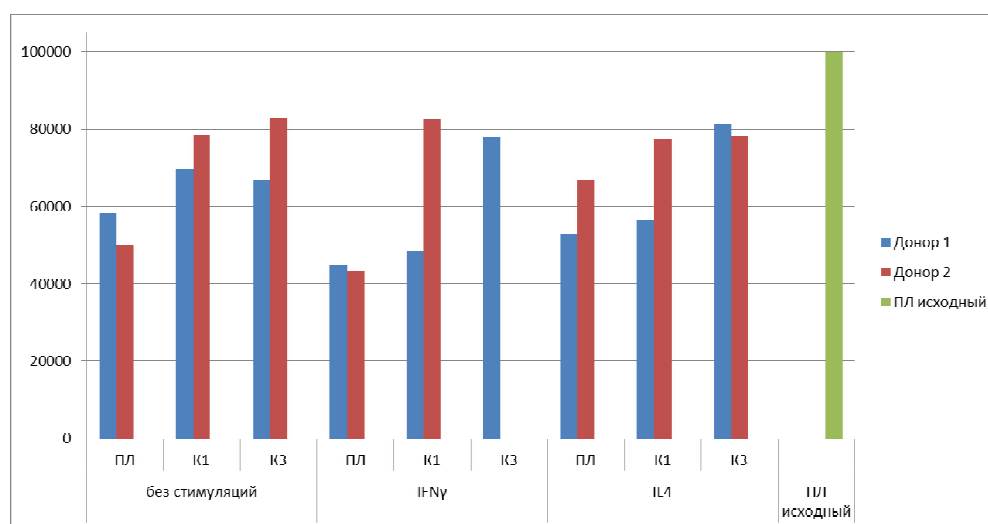


Рис. 3. Изменение ММ ПЛ в зависимости от стимулятора

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Оноприенко Л.В. Молекулярные механизмы регуляции активности макрофагов // Биоорганическая химия. – 2011. – Т. 37. – № 4. – с. 437–451.
2. Монастырская Е.А. М1 и М2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии // Патогенез. – 2008. – Т. 6. – № 4. – с. 31–39.
3. Сарбаева Н.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами // Гены & клетки. – 2016. – Т. 11. – № 1. – с. 9–17.
4. Грачев А.Н. Выделение моноцитов из крови человека для изучения влияния факторов внешней среды на иммунитет // Бюллетень Московского общества испытателей природы. – 2009. – Т. 114. – № 3. – с. 291–296.