

УДК 616-74

**МАГНИТОАКТИВНЫЕ КОМПОЗИТНЫЕ КОНДУИТЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ
НЕРВНОЙ ТКАНИ**

Л.Е. Шлапакова, М.А. Сурменева

Научный руководитель: профессор, д.т.н. Р.А. Сурменев

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: les2@tpu.ru

MAGNETOACTIVE COMPOSITE CONDUITS FOR NERVE TISSUE REGENERATION

L.E. Shlapakova, M.A. Surmeneva

Scientific Supervisors: Prof., Dr., R.A. Surmenev

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: les2@tpu.ru

Abstract. *Peripheral nerve injury is a considerable issue, which may threat to mobility and sensory function, leading to permanent function loss. To date, the most clinically applied approach for bridging nerve injuries is autologous nerve grafting. However this approach is far from an ideal option due to the donor site morbidity, donor shortage, risks of infections or neuroma formation and so on. An effective therapeutic strategy is urgently needed worldwide to overcome the current limitations. Tubular nerve guidance conduits are gaining attraction to bridge two injured nerve ends and provide physical protection and directional guidance for nerve regeneration. In the present study, we developed novel magnetic composite conduits based on biocompatible and bioresorbable poly-3-hydroxybutyrate (PHB) and citric acid-modified magnetite (Fe_3O_4 -CA) nanoparticles for nerve tissue engineering applications. Highly magnetic Fe_3O_4 -CA nanoparticles were synthesized by chemical co-precipitation of iron salts. The PHB/ Fe_3O_4 -CA conduits were fabricated by a versatile electrospinning technique. Subsequently, the composite conduits were comprehensively investigated by various methods. The influence of Fe_3O_4 -CA incorporation on the PHB morphology, topography, crystalline structure, and physico-mechanical properties is carefully discussed. As a result, magnetoactive conduits possess the structure, mechanical and magnetic characteristics appropriate for nerve tissue restoration and can potentially provide magnetic stimulation of nerve lesion repair in an external magnetic field. Thus PHB/ Fe_3O_4 -CA conduits are prospective candidates for clinical therapy of long-gap nerve injuries.*

Введение. Повреждения периферической нервной системы ведут к потере сенсорной и моторной функций конечностей, что может привести к длительной потере трудоспособности и инвалидности пациентов. Повреждения длиной свыше 1–2 см требуют операции по восстановлению функции нерва. Ежегодно в России в проведении таких операций нуждается от 4 до 7 тысяч человек [1]. На данный момент «золотым стандартом» восстановления нервов является имплантация донорского нерва. Этот метод обладает рядом недостатков, а именно: нехватка доноров, отторжение донорского нерва, риски инфекций и нейромы, неполное восстановление функций нерва и др. Поэтому ведется поиск альтернативных методов, например, имплантация биоактивных биоразлагаемых материалов для

стимуляции восстановления поврежденного нерва. Конduit для восстановления нервной ткани предоставляет собой трубку, которая соединяет концы поврежденного нерва и обеспечивает физическую защиту и направление роста новой нервной ткани [2]. Важнейшим свойством материалов для тканевой инженерии является биоактивность, поэтому необходимо снабжать кондуиты биохимическими, физическими и/или топографическими факторами для активации роста нервной ткани. Электрическую стимуляцию могут осуществлять пьезоэлектрические полимеры, которые генерируют электрический заряд в ответ на механическую деформацию [3], например, биосовместимый и биоразлагаемый поли-3-оксибутират (ПОБ). Другой стратегией инициировать восстановление нервов является добавление в полимерную матрицу магнитных наночастиц (МНЧ) с последующим применением внешнего магнитного поля (МП) [4]. При этом МНЧ намагничиваются в МП и осуществляют механическое давление на клеточные мембраны и органеллы. Наночастицы магнетита (Fe_3O_4) широко используются в биомедицине благодаря высоким магнитным и механическим свойствам, биосовместимости, химической стабильности. Мы предполагаем, что пьезоэлектрические и магнитные стимулы могут оказывать синергический эффект на процесс восстановления периферических нервов. Целью данного исследования является получение и характеристика магнитоактивных пьезополимерных кондуитов на основе ПОБ и наночастиц магнетита, модифицированных лимонной кислотой (ЛК).

Экспериментальная часть. Наночастицы Fe_3O_4 были получены химическим соосаждением солей железа (II) и (III) и покрыты ЛК для повышения биосовместимости и снижения агломерации. Кондуиты ПОБ и ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК (8 мас. %) изготовлены методом электроформования, универсальным методом получения высоко пористых нано- и микроволоконных материалов для тканевой инженерии с высокой удельной поверхностью и контролируемыми механическими свойствами [2, 4]. В качестве коллектора использовалась вращающаяся стальная спица с диаметром 2 мм. Морфология и топография частиц и кондуитов исследовалась методами сканирующей электронной микроскопии (СЭМ, Quanta 600, Япония) и атомной силовой микроскопии (АСМ, Ntegra Spectra II, Нидерланды). Кристаллическая структура образцов была исследована методом рентгенофазового анализа (РФА, Rigaku MiniFlex 600, Япония). Дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC Q2000, США) использовалась для оценки термических свойств кондуитов в диапазоне 50...250°C. Физико-механические испытания на одноосное растяжение трубчатых образцов проводились на универсальной испытательной машине Instron 3369 (Instron, США) с применением изготовленных на заказ креплений.

Результаты. Снимки СЭМ (Рис. 1, б-в) кондуитов ПОБ и ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК демонстрируют проницаемую пористую структуру, представленную бездефектными однородными волокнами со случайным расположением и диаметрами волокон (d) $0,9 \pm 0,2$ и $1,2 \pm 0,1$ мкм, соответственно (Табл. 1). Пористая структура способствует обмену нутриентами, метаболитами и газами между внешней и внутренней средой кондуита. В дополнение, высокая удельная поверхность повышает адгезию клеток, а сообщающиеся поры способствуют трехмерному росту клеток. Микротопография кондуита ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК значительно улучшилась в сравнении с чистым кондуитом ПОБ, что подтверждается исследованиями СЭМ и АСМ. На основании профилей топографии кондуитов выявлено увеличение значения средней шероховатости поверхности ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК от $11,2 \pm 1,9$ до $19,4 \pm 5,5$ нм. Развитая поверхность композита обеспечивает значительную площадь для адгезии и пролиферации клеток, что предпочтительно для материалов для тканевой инженерии.

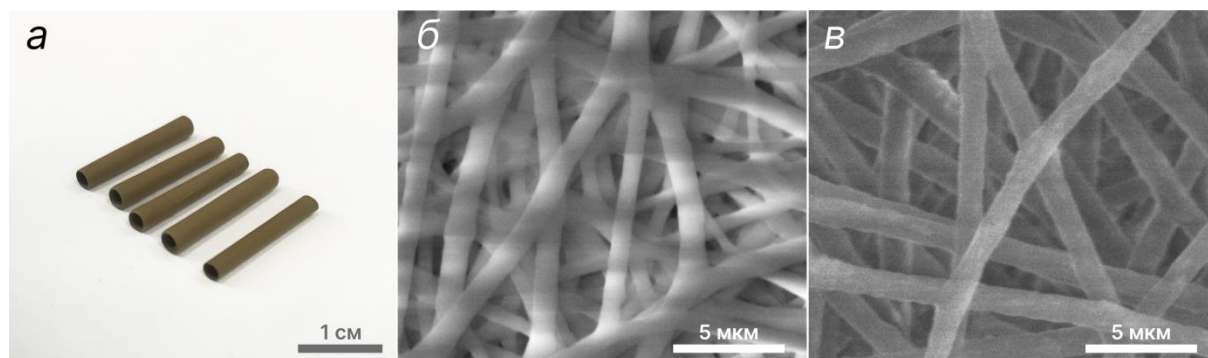


Рис. 1. Композитные кондуиты ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК (а); изображения СЭМ кондуитов ПОБ (б) и ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК (в)

РФА позволил предположить, что добавление частиц Fe_3O_4 -ЛК увеличивает содержание электроактивной β -фазы ПОБ в композитных кондуитах, о чем свидетельствует более интенсивный рефлекс при $2\theta=20^\circ$, соответствующий плоскости (110) кристаллической β -фазы ПОБ. Увеличение β -фазы положительно влияет на пьезоотклик ПОБ [3], следовательно, кондуиты ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК могут обеспечивать более эффективную электрическую стимуляцию в сравнении с чистым ПОБ. Согласно данным ДСК (Рис. 2, а; Табл. 1), внедрение магнитных частиц приводит к снижению степени кристалличности композитных кондуитов от 59 до 54% вследствие агломерации Fe_3O_4 -ЛК, которая ограничивает мобильности макромолекул ПОБ и затрудняет их упорядоченное расположение. Важно отметить, что пластичность композитного кондуита ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК значительно улучшается по сравнению с контрольным образцом, что соответствует механическим свойствам мягких тканей, в т.ч. нервов. Модуль Юнга, характеризующий жесткость материала, снижается от 468 ± 11 до 221 ± 52 МПа, в то время как удлинение до разрыва увеличивается от $17,9 \pm 3,6$ до $28,6 \pm 2,9\%$ для чистых и композитных кондуитов, соответственно (Табл. 1). Таким образом, кондуиты ПОБ/ Fe_3O_4 -ЛК обладают большей гибкостью и пластичностью в сравнении с гомополимером, что является необходимым свойством кондуитов для нервной ткани [2]. Значения намагниченности насыщения наночастиц Fe_3O_4 -ЛК и магнитоактивных кондуитов составляют $61,9 \pm 0,3$ и $7,4 \pm 0,1$ эс/г, соответственно (Табл. 1), что позволяет оказывать магнитную стимуляцию восстановления нервной ткани с приложением внешнего МП [4].

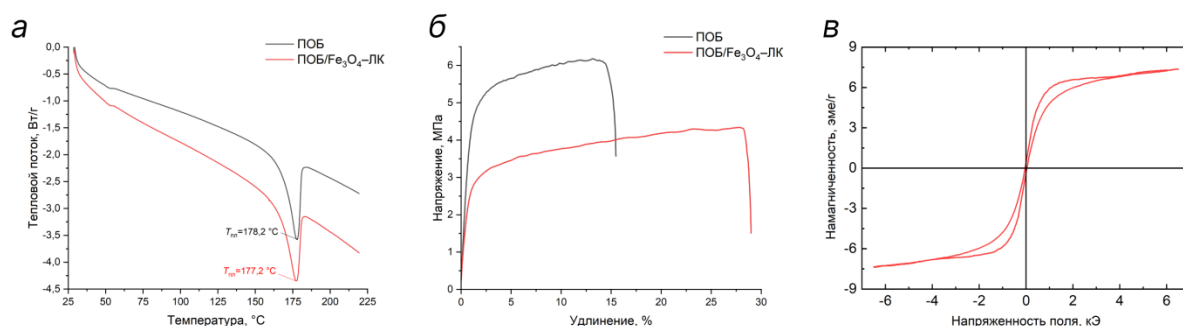


Рис. 2. Кривые ДСК (а) и кривые «напряжение–деформация» (б) исследуемых кондуитов; петля магнитного гистерезиса композитного кондуита (в)

Таблица 1

Физико-химические свойства исследуемых кондуитов

Параметр	ПОБ	ПОБ/Fe ₃ O ₄ –ЛК
Диаметр волокон d , мкм	$0,9 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,1$
Пористость P , %	$83,5 \pm 2,1$	$82,3 \pm 1,1$
Средняя шероховатость R_a , нм	$11,2 \pm 1,9$	$19,4 \pm 5,5$
Степень кристалличности X_c , %	59	54
Максимальная прочность σ_{max} , МПа	$6,2 \pm 0,7$	$3,9 \pm 0,7$
Модуль Юнга E , МПа	468 ± 11	221 ± 52
Удлинение до разрыва ε , %	$17,9 \pm 3,6$	$28,6 \pm 2,9$
Намагниченность насыщения σ_s , эме/г	–	$7,44 \pm 0,07$

Закключение. В результате проведенных исследований получены новые электроформованные магнитоактивные кондуиты для инженерии нервной ткани с требуемой морфологией, структурой и механическими свойствами. Выявлено влияние магнитного наполнителя Fe₃O₄–ЛК на свойства ПОБ в композитных кондуитах. Предложенный материал перспективен для дальнейших исследований *in vitro* и *in vivo* с последующим применением в клинической терапии повреждений нервной системы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ (проект № 20-63-47096). Выражаем благодарность Мухортовой Ю.Р. за помощь в синтезе магнетита, Парию И. за проведение измерений АСМ и Вагнеру Д.В. за проведение магнитометрии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Журбин Е.А. Возможности ультразвукового исследования в диагностике и хирургическом лечении повреждений периферических нервов конечностей: Автореф. Дис. ... канд. мед. наук. – Санкт-Петербург, 2018. – 22 с.
2. Behtaj S., Ekberg J. A. K., St John J. A. Advances in electrospun nerve guidance conduits for engineering neural regeneration // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14., No. 2. – P. 219.
3. Chen P. et al. Ultrasound-driven electrical stimulation of peripheral nerves based on implantable piezoelectric thin film nanogenerators // *Nano Energy*. – 2021. – Vol. 86. – P. 106123.
4. Funnell J. L. et al. Assessing the combination of magnetic field stimulation, iron oxide nanoparticles, and aligned electrospun fibers for promoting neurite outgrowth from dorsal root ganglia in vitro // *Acta Biomaterialia*. – 2021. – Vol. 131. – P. 302-313.