

Влияние морфологии тетрафункционального полилактида на регенерацию дефектов костной ткани

Д.С. Кузнецова^{1,2}, А.В. Королева³, А.А. Акованцева⁴, А.А. Фролова⁴, С.Л. Котова⁵,
В.Н. Баграташвили⁴, П.С. Тимашев^{4,6}

¹*НИИ биомедицинских технологий НижГМА, Россия, Нижний Новгород*

²*Институт биологии и биомедицины, Россия, Нижний Новгород*

³*Ганноверский лазерный центр, Германия, Ганновер*

⁴*Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Россия, Троицк akovantseva-a@yandex.ru*

⁵*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Россия, Москва*

⁶*Институт регенеративной медицины первого МГМУ им. Сеченова, Россия, Москва*

Определено влияние длины разветвленных цепей сшитых тетрафункциональных полилактидов на микроморфологию поверхности. Оценены механические свойства структурированных скаффолдов в режиме PeakForce QNM (MultiMode 8, Bruker, США). Подобран оптимальный по своим механическим и поверхностным характеристикам тип полилактидов для полной регенерации созданного костного дефекта ткани мыши.

Influence of tetrafunctional polylactide morphology on regeneration of bone tissue defects

D.S. Kuznecova^{1,2}, A.V. Koroleva³, A.A. Akovantseva⁴, A.A. Frolova⁴, S.L. Kotova⁵,
V.N. Bagratashvili⁴, P.S. Timashev^{4,6}

¹*Institute of Biomedical Technologies, Nizhni Novgorod State Medical Academy, Nizhni Novgorod, Russia*

²*Institute of Biology and Biomedicine, National Research Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Russia*

³*Hannover Lazer Zentrum e.V., Hannover, Germany*

⁴*Institute of Photonic Technologies, Federal Research Center of Crystallography and Photonics of RAS, Leninskiy avenue, Moscow, 119333, Russia*

⁵*N.N.Semenov Institute of Chemical Physics of RAS, Kosygina st. 4, Moscow, 119991, Russia*

⁶*Institute for Regenerative Medicine of the I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya st. 8-2, Moscow, 119991, Russia*

The influence of the length of branched chains of cross-linked tetrafunctional polylactides on the surface micromorphology is determined. The mechanical properties of structured scaffolds are estimated in the PeakForce QNM mode (MultiMode 8, Bruker, USA). Optimal type of polylactide for its mechanical and surface characteristics was selected for complete regeneration of the created bone defect in mouse tissue.

В настоящее время одним из наиболее распространенных заболеваний являются травмы, связанные с опорно-двигательной системой, в том числе травмы костных тканей, возникающие, в частности, в результате остеопарозов различных этиологий. Одной из возможностей восстановления подобных дефектов является ведение стволовых клеток в поврежденную область [1-3]. Однако такой способ не дает полного замещения дефекта [4]. В качестве другого способа восстановления рассматривается вживление биоразлагаемых скаффолдов, в том числе, на основе полилактида, в область повреждения костной ткани [5-7]. Как было показано ранее, морфология поверхности таких структур определяет эффективность закрепления на них мезенхимальных стволовых клеток (МСК), поддерживает их жизнеспособность и может инициировать остеогенную дифференцировку стволовых клеток [8,9]. Перспективным методом для изготовления 3D-скаффолдов является двухфотонная полимеризация (2ПП), позволяющая сформировать

структуры с высоким пространственным разрешением и модулем Юнга, соответствующим нормальной кости [10].

В настоящем исследовании было показано влияние изменения длины разветвленных полилактидов PLA480, PLA760 и PLA760P на микроморфологию поверхности и остеогенный потенциал высаживаемых клеток на имплантированный в костный дефект мышцы скаффолд. Структура скаффолдов показана на рисунке 1. Методами атомно-силовой и сканирующей электронной микроскопии определено, что шероховатость поверхности значительно возрастает с увеличением длины боковых цепей. Скаффолды на основе PLA760 отличаются сильной шероховатостью поверхности (при средней шероховатости 50-100 нм) и наличием больших пор с размерами до 1 мкм. Из-за сильной неравномерности поверхности скаффолды PLA760 оптически непрозрачны, в то время как скаффолды на основе PLA480 оптически прозрачны. Также на поверхности обоих видов скаффолдов обнаружены поры размерами от 20 до 200 нм, занимающие до 20% поверхности. Показано, что наибольшее количество клеток высаживается на поверхность PLA760, остеогенная дифференцировка клеток на нем также более выражена. Эксперименты *in vivo* показали, что на 10 неделе на месте дефекта идет образование фосфата кальция, а также формирование новой кости и вращание кровеносных сосудов от окружающих тканей. Таким образом, определено влияние длины разветвленных боковых цепей полилактида на морфологию поверхности трехмерных скаффолдов, и подобран оптимальный тип сшитых тетрафункциональных полилактидов PLA760 для полной регенерации созданного костного дефекта ткани мышцы.

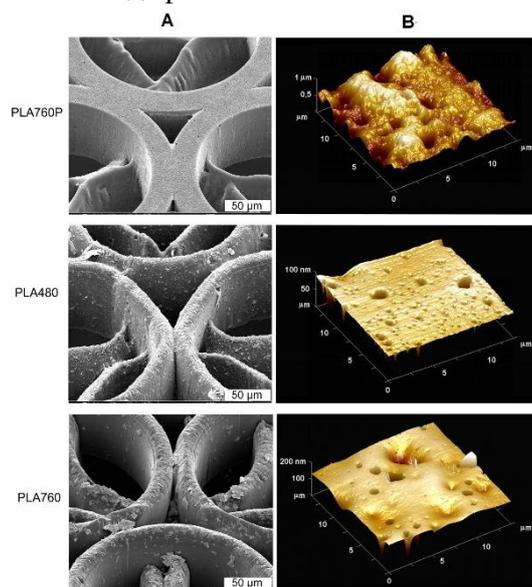


Рисунок 1. Поверхность скаффолдов, полученная методом сканирующей электронной (А) и атомно-силовой (В) микроскопии.

1. M.P. Lutolf, P.M. Gilbert, H.M. Blau, *Nature*, **462**, 433–41 (2009).
2. M.P. Lutolf, R. Doyonnas, K. Havenstrite, K. Koleckar, H.M. Blau, *Integr. Biol.*, **1**, 59–69 (2009).
3. A. Wilson, A. Trumpp, *Nat. Rev. Immunol.*, **6**, 93–106 (2006)
4. R. Tevlin, G.G. Walmsley, O. Marecic, M.S. Hu, D.C. Wan, M.T. Longaker, *Drug Deliv. Transl. Res.*, **6**, 159–73 (2016)
5. Y.P. Sharkeev, E.V. Legostaeva, A.Y. Eroshenko, I.A. Khlusov, O.A. Kashin, *Compos. Interfaces*, **16**, 535–46 (2009)
6. W.L. Grayson, M. Fröhlich, K. Yeager, S. Bhumiratana, M.E. Chan, C. Cannizzaro, L.Q. Wan, X.S. Liu, X.E. Guo, G. Vunjak-Novakovic, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **107**, 3299–304 (2010)
7. N.J. Sniadecki, R.A. Desai, S.A. Ruiz, C.S. Chen, *Ann. Biomed. Eng.*, **34**, 59–74 (2006)
8. S. Bhumiratana, G. Vunjak-Novakovic, *Transl. Med.*, **1**, 64–9 (2012)
9. S.J. Hollister, *Nat. Mater.*, **4**, 518–24 (2005)
10. A. Koroleva, et. al., *PLoS One*, **10**, e0118164 (2015)