ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.1:616–005:616–018 Оригинальная статья

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ У БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПОДКОЖНЫХ ИМПЛАНТАЦИОННЫХ ТЕСТАХ МАТРИЦ ИЗ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА, СОДЕРЖАЩИХ ВАТЕРИТ И ГИДРОКСИАПАТИТ

А. Н. Иванов *— ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, заведующий отделением лабораторной диагностики, главный научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, доктор медицинских наук;* ***М. О. Куртукова*** *— ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры гистологии, кандидат медицинских наук;* ***Ю. А. Чибрикова*** *— ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, врач-ординатор кафедры травматологии и ортопедии;* ***С. В. Кустодов —*** *ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студент;* ***Д. А. Тяпкина —*** *ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студентка;* ***И. О. Бугаева —*** *ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, проректор по учебной работе — директор института подготовки кадров высшей квалификации и дополнительного профессионального образования, заведующая кафедрой гистологии, профессор, доктор медицинских наук;* ***И. А. Норкин*** *— ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, директор НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, профессор, доктор медицинских наук.*

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF MICROCIRCULATORY CHANGES IN WHITE RATS DURING SUBCUTANEOUS IMPLANTATION TESTS OF POLYCAPROLACTONE SCAFFOLDS CONTAINING VATERITE AND HYDROXYAPATITE

A. N. Ivanov *— Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Head of Laboratory Diagnostics Department, Chief Research Assistant of Department of Fundamental, Clinical and Experimental Studies, DSc;* ***M. O. Kurtukova*** *— Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Associate Professor of Department of Histology, PhD;* ***Yu. A. Chibrikova*** *— Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Resident of Department of Traumatology and Orthopedics;* ***S. V. Kustodov*** *— Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Student;* ***D. A. Tyapkina*** *— Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Student;* ***I. O. Bugaeva*** *— Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Vice-Rector for Academic Work — Director of Institute of Training of Higher and Additional Professional Education, Head of Department of Histology, Professor, DSc;* ***I. A. Norkin*** *— Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Director of Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Head of Department of Traumatology and Orthopedics, Professor, DSc.*

Дата поступления — 19.02.2019 г. Дата принятия в печать — 28.02.2019 г.

Иванов А. Н., Куртукова М. О., Чибрикова Ю. А., Кустодов С. В., Тяпкина Д. А., Бугаева И. О., Норкин И. А. **Сравнительная характеристика микроциркуляторных изменений у белых крыс при подкожных имплантационных тестах матриц из поликапролактона, содержащих ватерит и гидроксиапатит. Саратовский научно-медицинский журнал 2019; 15 (1): 98–103.**

Цель: сравнительная оценка функциональных изменений параметров микроциркуляции кожи в качестве критериев биосовместимости при субкутанной имплантации поликапролактоновых скаффолдов, волокна которых минерализованы ватеритом и гидроксиапатитом. *Материал и методы.* Экспериментальная работа выполнена на 43 крысах, распределенных на три группы: две опытные и отрицательного контроля. Крысам из группы отрицательного контроля (n=15) имплантировали поликапролактоновые (ПКЛ) скаффолды, содержащие овальбумин и не имеющие биосовместимости. Крысам первой опытной группы проводилась имплантация под кожу скаффолдов из ПКЛ и ватерита, а животным второй опытной группы имплантировали ПКЛ-скаффолды с гидроксиапатитом. Для исследования микроциркуляции использовали лазерную допплеровскую флоуметрию. *Результаты.* В области имплантации небиосовместимых матриц происходило стойкое повышение перфузионного показателя, а также изменялась модуляция локального кровотока кожи. При имплантации матриц из ПКЛ, минерализованных ватеритом и гидроксиапатитом, отмечался транзиторный характер локальных микроциркуляторных реакций с полной нормализацией перфузии кожи и механизмов ее модуляции к 21-м суткам эксперимента. *Заключение.* При динамическом мониторинге микроциркуляторных изменений установлено, что минерализация матриц как ватеритом, так и гидроксиапатитом не вызывает выраженных изменений перфузии кожи при субкутанных имплантационных тестах у белых крыс, что свидетельствует о биосовместимости этих типов скаффолдов.

Ключевые слова: скаффолды, поликапролактон, гидроксиапатит, ватерит, микроциркуляция.

Ivanov AN, Kurtukova MO, Chibrikova YuA, Kustodov SV, Tyapkina DA, Bugaeva IO, Norkin IA. **Comparative characteristics of microcirculatory changes in white rats during subcutaneous implantation tests of polycaprolactone scaffolds containing vaterite and hydroxyapatite. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2019; 15 (1): 98–103.**

Objective: comparative evaluation of skin microcirculatory functional changes over the implantation area of polycaprolactone scaffolds with mineral carriers: vaterite and hydroxyapatite. *Material and Methods.* The experimental study was performed on 43 rats divided into three groups: two test groups and one negative control group. Polycaprolactone PCL-scaffolds containing ovalbumine and of no biocompatibility were implanted into the rats of negative control group (n=15). The implantation of PCL-scaffolds containing vaterite under their skin was performed on rats of the first test group, and animals of the second test group were implanted with PCL-scaffolds containing hydroxyapatite. The method of laser Doppler flowmetry was used to study the microcirculatory flow. *Results.* The constant increase in the perfusion index has been observed in the area of non-biocompatibile scaffolds implantation. The changes in local skin blood flow modulation have been also detected. The transient character of local microcirculatory responses with total normalization of skin perfusion and its mechanisms has been noticed by the 21st day of the trial following PCL-scaffolds with vaterite and hydroxyapatite implantation. *Conclusion*. The dynamic monitoring has allowed finding that mineralization of PCL-scaffolds with vaterite as well as hydroxyapatite leads to no prominent changes in skin perfusion at subcutaneous implantation tests on white rats suggesting the biocompatibility of these scaffold types.

Key words: scaffolds, polycaprolactone, hydroxyapatite, vaterite, microcirculation.

Введение. Одной из актуальных проблем современной медицины является разработка технологий стимуляции регенерации различных тканей посредством применения специальных методов тканевой инженерии. Создание скаффолдов или матриц, представляющих собой трехмерные пористые структуры, которые имплантируются непосредственно в область дефекта ткани, — важное направление в данной области. После внедрения в организм волокна скаффолдов играют роль внеклеточного каркаса, вокруг и по периферии которого происходят процессы регенерации и васкуляризации ткани. Для возможности заселения матрицы клеточными элементами скаффолды должны обладать определенными свойствами. Наличие оптимальных механических характеристик в сочетании с высокой пористостью материала обеспечивает возможность васкуляризации и нормального метаболизма тканей. Способность обладать длительным периодом биодеградации, сопоставимым со сроками регенерации ткани, необходима для обеспечения механической стабильности. В настоящее время предложены различные виды материалов природного и искусственного происхождения для создания скаффолдов. Длительная и контролируемая скорость деградации определяет преимущества использования для создания скаффолдов синтетических полимеров, в частности поликапролактона (ПКЛ) [1, 2].

Учитывая особенности межклеточного вещества костной ткани, для улучшения остеокондуктивных и остеоиндуктивных характеристик скаффолдов целесообразно включать в их состав неорганические материалы, одним из которых является гидроксиапатит, являющийся главным минералом в костной ткани [3, 4]. Вместе с тем для минерализации волокон скаффолда, кроме гидроксиапатита, могут быть использованы и другие соли кальция, в частности карбонатные. Так, для создания скаффолдов используют ватерит, обладающий способностью к стимуляции активности остеобластов. Одним из достоинств ватерита является его способность к адресной доставке предварительно адсорбированных активных молекул определенного вещества, высвобождаемых локально при переходе ватерита в кальцит [5].

Основным требованием, предъявляемым к скаффолдам, является биосовместимость. Матрицы должны интегрироваться в организм, не вызывая патогенных реакций со стороны окружающих тканей, и обладать способностью к заселению клеточными элементами и потенциалом для васкуляризации. При разработке скаффолдов главным этапом оценки биосовместимости согласно межгосударственному стандарту ISO (ГОСТ 10993-6-2011) являются имплантационные тесты. Одна из разновидностей подобных тестов in vivo выполняется путем имплантации в подкожную клетчатку белым крысам. При этом оценивают интенсивность локальных и системных проявлений воспалительной реакции, процессы заселения клеточными элементами и васкуляризацию матриц. Сосудистые реакции являются неотъемлемой частью воспалительного процесса, поэтому их динамика может быть использована для оценки и сравнения биосовместимости матриц при субкутанных имплантационных тестах на животных.

Цель: сравнительная оценка функциональных изменений параметров микроциркуляции кожи в качестве критериев биосовместимости при субкутанной имплантации поликапролактоновых скаффолдов, волокна которых минерализованы ватеритом и гидроксиапатитом.

Материал и методы. Эксперимент выполнялся на 43 белых крысах в возрасте 6–8 месяцев. Дизайн исследования включал деление животных на следующие группы:

1) группа отрицательного контроля: 15 крыс с имплантацией матриц из ПКЛ, содержащих овальбумин и не имеющих биосовместимости;

2) первая опытная группа: 15 животных, которым выполнена имплантация ПКЛ-скаффолдов с ватеритом;

3) вторая опытная группа: 13 крыс с имплантацией скаффолдов из ПКЛ и гидроксиапатита.

Проведенное экспериментальное исследование не противоречит этическим принципам, регламентируемым международными и российскими законодательными актами, касающимися вопросов защиты прав животных. Протокол исследования одобрен комитетом по этике Саратовского государственного медицинского университета им. В. И. Разумовского.

За 5 минут до проведения манипуляций животным внутримышечно вводились телазол 100 (Zoetis Inc, США) в дозе 0,1 мл/кг и ксиланит (Нита-Фарм, Россия) в дозе 1мг/кг.

Скаффолды изготовлялись в Образовательно-научном институте наноструктур и биосистем Саратовского государственного университета им Н. Г. Чернышевского. Толщина волокон матриц в среднем составила 0,6 мкм.

Для имплантации матриц после депиляции и обработки антисептиком операционного поля производился разрез кожи в межлопаточной области крыс. Затем с помощью браншей пинцета формировался карман (15х15 мм). Скаффолд дискообразной формы диаметром 10 мм помещался в образованный карман. После размещения матрицы рана была ушита с помощью нерассасывающейся монофиламентной

Ответственный автор — Чибрикова Юлия Андреевна
Тел.: +7 (903) 0229200
E-mail: chibrikova_yulya@mail.ru

Изменение перфузии кожи при имплантации небиосовместимых матриц и скаффолдов из ПКЛ-волокон, минерализованных ватеритом и гидроксиапатитом

Период	Контроль (n=15)	Отрицательный контроль (n=15)	Опытные группы	
			№1 «Ватерит» (n=15)	№ 2 «Гидроксиапатит» (n=13)
7-е сутки	11,1 (9,6; 12,5)	18,4 (16,8; 20,0) p_1<0,001	12,6 (11,7; 13,8) p_1=0,027 p_2<0,001	11,4 (11; 13,2) p_1=0,192 p_2<0,001 p_3=0,215
14-е сутки	11,1 (9,6; 12,5)	21 (19,2;25,2) p_1<0,001	12,3 (11,4;13,3) p_1=0,065 p_2<0,001	12,9 (12,7; 13,4) p_1=0,016 p_2<0,001 p_3=0,30506
21-е сутки	11,1 (9,6; 12,5)	21,7 (15,9; 27,8) p_1<0,001	11,4 (10,6; 12,7) p_1=0,479 p_2<0,001	11,4 (11,3; 11,9) p_1=0,882 p_2<0,001 p_3=0,804

Примечания: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили; p_1, p_2, p_3 — по сравнению с контролем, отрицательным контролем и первой опытной группой животных в тот же срок наблюдения.

нити Resorpen 3–0 USP (RESORBA MedicalGmbH, Германия) и обрабатывалась 70%-м спиртом.

Для оценки сосудистых реакций на имплантацию скаффолда проводили изучение микрокровотока кожи с использованием метода лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью анализатора ЛАКК-ОП (НПП «Лазма», Россия). Рабочий торец зонда был размещен перпендикулярно участку кожи, под которым располагалась матрица. ЛДФ-граммы регистрировали на 7, 14 и 21-е сутки эксперимента у животных всех исследуемых групп. В качестве контроля использовались ЛДФ-граммы, зарегистрированные у интактных животных. Определен показатель перфузии в перфузионных единицах (пф. ед.), при помощи вейвлет-анализа выполнялся расчет нормированных амплитуд колебаний в эндотелиальном, нейрогенном, миогенном, дыхательном, кардиальном диапазонах.

Все результаты представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Сравнение между группами выполнено путем расчета U-критерия Манна — Уитни и Р — показателя достоверности различия. Критический уровень Р принимали равным 0,05.

Результаты.

1. *Сравнительная характеристика микроциркуляторных изменений на 7-е сутки подкожных имплантационных тестов небиосовместимых матриц и скаффолдов, содержащих соли кальция.* Полученные в ходе эксперимента результаты демонстрируют, что у белых крыс группы отрицательного контроля на 7-е сутки после субкутанной имплантации скаффолда показатель перфузии кожи над областью расположения скаффолда с овальбумином статистически достоверно выше контрольных значений на 65,7% (таблица).

При этом нормированные амплитуды колебаний в миогенном и нейрогенном диапазонах значимо превышают контрольные значения на 38,3 и 20,8% соответственно (рис. 1).

У животных первой опытной группы на 7-е сутки после имплантации скаффолдов из ПКЛ с ватеритом, определялось статистически достоверное повышение перфузии кожи в области расположения матрицы на 13,5% относительно контрольных значений. При этом перфузия кожи над областью размещения матриц у животных данной группы статистически достоверно ниже значений группы отрицательного контроля на 31,5% (см. таблицу). В первой опытной группе животных не отмечается значимых изменений как активной, так и пассивной модуляции кровотока относительно контрольных значений. Сравнивая данные, полученные в первой опытной группе, с дан-

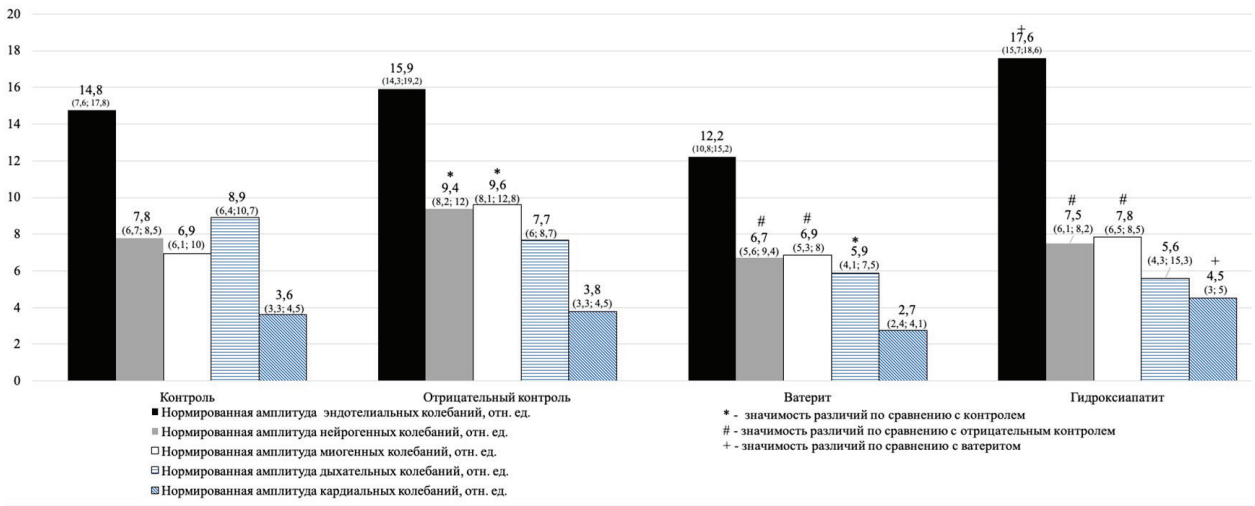

Рис. 1. Нормированные амплитуды колебаний перфузии кожи над областью имплантации небиосовместимых матриц и скаффолдов из ПКЛ-волокон, минерализованных ватеритом и гидроксиапатитом, на 7-е сутки эксперимента

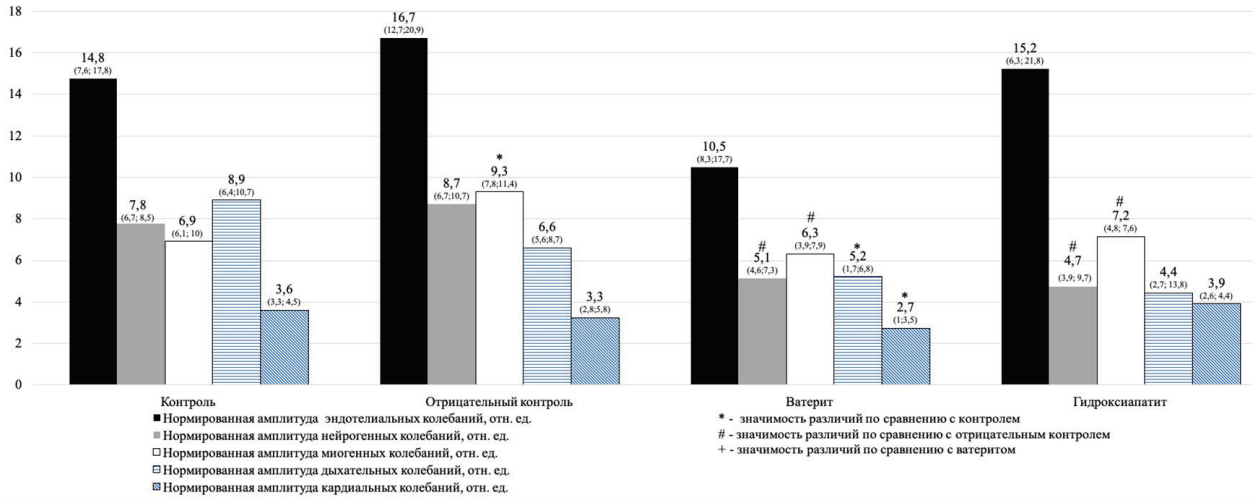

Рис. 2. Нормированные амплитуды колебаний перфузии кожи над областью имплантации небиосовместимых матриц и скаффолдов из ПКЛ-волокон, минерализованных ватеритом и гидроксиапатитом, на 14-е сутки эксперимента

ными группы отрицательного контроля обнаружено, что нормированные амплитуды колебаний в нейрогенном и миогенном диапазоне на 28,6% ниже при имплантации скаффолдов, содержащих ватерит. При этом значимость различий нормированных амплитуд в других регуляторных диапазонах у крыс первой опытной группы и отрицательного контроля не доказана (см. рис. 1).

У животных второй опытной группы на 7-е сутки после имплантации скаффолдов на основе ПКЛ и гидроксиапатита перфузия кожи над областью размещения матриц была на 38% ниже, чем у крыс группы отрицательного контроля. Вариабельность перфузионного показателя у животных данной группы в значительной степени перекрывала межквартильный размах как первой опытной группы, так и контроля (см. таблицу). Амплитудно-частотный анализ ЛДФ-грамм у крыс второй опытной группы свидетельствует о том, что нормированные амплитуды нейрогенных и миогенных колебаний перфузии кожи над областью размещения скаффолда на 20,1 и 18,3% меньше, чем у крыс группы отрицательного контроля (см. рис. 1). Значимых отличий нормированных амплитуд колебаний перфузии кожи над областью имплантации скаффолдов у крыс второй опытной группы по сравнению с контрольными значениями ни в одном из регуляторных диапазонов не обнаружено.

При сравнении параметров микроциркуляции у животных опытных групп выявлено, что при имплантации матриц с гидроксиапатитом на 7-е сутки эксперимента амплитуды эндотелиальных и кардиальных колебаний выше на 44,0 и 65,3% соответственно, чем у животных, которым имплантировались скаффолды с ватеритом (см. рис. 1). Нормированные амплитуды колебаний в нейрогенном, дыхательном и миогенном диапазонах у животных второй опытной группы не имеют статистически достоверных различий с крысами, которым имплантировали матрицы из ПКЛ-волокон, минерализованных ватеритом.

Таким образом, через 7 дней после имплантации небиосовместимых матриц отмечается увеличение перфузии кожи над зоной ее размещения, а также нормированных амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний. В тот же срок наблюдения при имплантации матриц из ПКЛ-волокон, минерализованных ватеритом, повышение перфузии кожи в области размещения скаффолда выражено слабо и не сопровождается признаками изменения модуляции кровотока. Имплантация матриц, содержащих гидроксиапатит, не сопровождается значимыми изменениями микроциркуляции кожи на 7-е сутки эксперимента.

2. *Сравнительная характеристика микроциркуляторных изменений на 14-е сутки подкожных имплантационных тестов небиосовместимых матриц и скаффолдов, содержащих соли кальция.* На 14-е сутки после имплантации под кожу скаффолдов из поликапролактона, содержащих овальбумин, у белых крыс отмечается статистически значимое увеличение показателя перфузии на 89,1% по сравнению с контрольными значениями (см. таблицу). Так же как и на 7-е сутки после имплантации небиосовместимых скаффолдов, у животных отмечается увеличение показателей, характеризующих активную модуляцию микроциркуляции. Однако статистически значимое повышение отмечается только нормированных амплитуд миогенных колебаний (рис. 2).

На 14-е сутки эксперимента у крыс первой опытной группы, которым имплантировали скаффолды из ПКЛ-волокон с ватеритом, показатель перфузии кожи над зоной размещения матриц не имел значимых отличий от контроля и был значимо меньше значений отрицательного контроля в среднем на 41,4% (см. таблицу). Показатели активной модуляции кровотока над зоной размещения матриц из ПКЛ и ватерита через 2 недели после оперативного вмешательства не имеют отклонений от уровня контроля (см. рис. 2). Нормированные амплитуды нейрогенных и миогенных колебаний у крыс первой опытной группы ниже значений группы отрицательного контроля на 41,1 и 32,1% соответственно (см. рис. 2). При этом отмечается снижение вклада пассивных колебаний в модуляцию микроциркуляции, что проявляется уменьшением нормированных амплитуд в дыхательном и сердечном диапазонах (см. рис. 2).

На 14-е сутки после имплантации под кожу белым крысам матриц из ПКЛ-волокон, покрытых гидроксиапатитом, отмечено статистически достоверное увеличение показателя перфузии по сравнению с контрольными значениями на 16,2%. Однако у животных второй опытной группы перфузия кожи над областью размещения матриц статистически значимо ниже, чем у крыс группы отрицательного контроля, на 38,5%. В то же время различия перфузии у

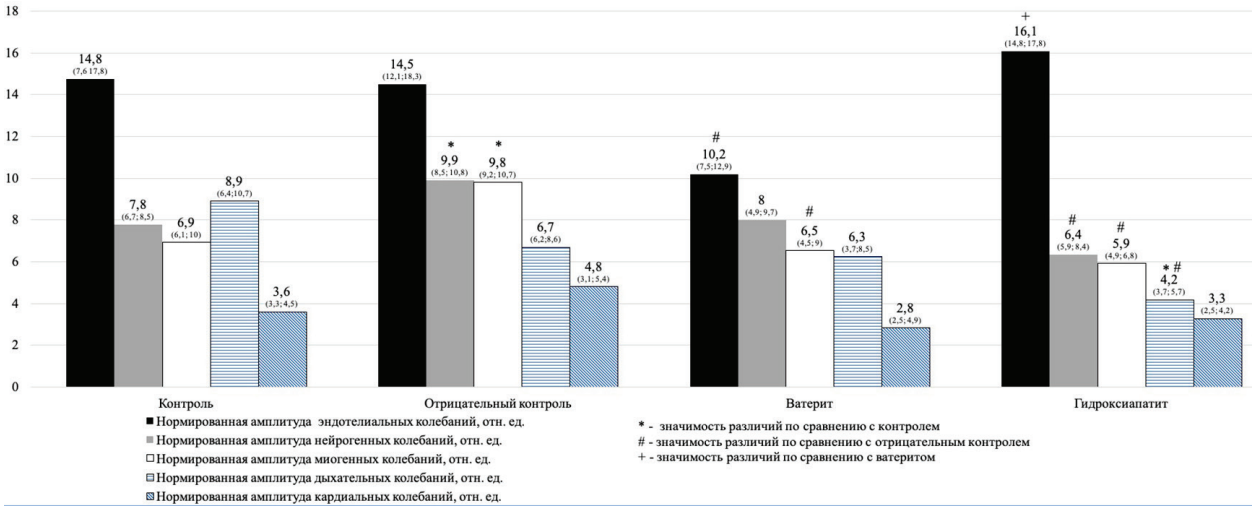

Рис. 3. Нормированные амплитуды колебаний перфузии кожи над областью имплантации небиосовместимых матриц и скаффолдов из ПКЛ-волокон, минерализованных ватеритом и гидроксиапатитом, на 21-е сутки эксперимента

крыс первой и второй опытных групп статистической значимости не достигают (см. таблицу). Сравнивая данные, полученные во второй опытной группе, с данными группы отрицательного контроля, отметили статистически значимое снижение показателей нейрогенных и миогенных механизмов активного контроля микроциркуляции, что проявляется снижением нормированных амплитуд колебаний в этих диапазонах на 45,5 и 23,1% соответственно. Значимых различий параметров активной и пассивной модуляции микрокровотока у крыс первой и второй опытных групп на 14-е сутки имплантационных тестов не выявлено (см. рис. 2).

Таким образом, через 2 недели после имплантации небиосовместимых скаффолдов у животных сохраняется повышение перфузии кожи над областью размещения матриц, сопровождающееся увеличением вклада миогенных колебаний в модуляцию микрокровотока. В тот же срок наблюдения после имплантации скаффолдов из ПКЛ-волокон, покрытых ватеритом, показатели перфузии и ее активной модуляции соответствуют контрольным значениям. Через 14 дней после имплантации скаффолдов, содержащих в качестве минерального компонента гидроксиапатит, у животных отмечается слабовыраженное увеличение перфузионного показателя кожи над зоной размещения матриц, без значимого изменения активных механизмов модуляции микрокровотока.

3. *Сравнительная характеристика микроциркуляторных изменений на 21-е сутки подкожных имплантационных тестов небиосовместимых матриц и скаффолдов, содержащих соли кальция.* Через 21 день после субкутанной имплантации небиосовместимых матриц у белых крыс отмечается увеличение показателя перфузии кожи на 95,4% относительно контрольных значений (см. таблицу). При этом показатели, характеризующие активность нейрогенного и миогенного механизмов контроля микроциркуляции, статистически значимо превышают контрольные значения на 27,2 и 41,2% (рис. 3).

На 21-е сутки после имплантации ПКЛ-матриц, содержащих ватерит, все показатели микрокровотока кожи над областью размещения скаффолда не имеют статистически значимых отличий от уровня контроля. Перфузионный показатель кожи над областью имплантации в первой опытной группе на 21-е сутки эксперимента на 47,4% ниже по сравнению с отрицательным контролем (см. таблицу). При этом у животных данной группы по сравнению с крысами отрицательного контроля активность эндотелиального и миогенного компонентов модуляции микроциркуляции ниже на 29,6 и 33,2% соответственно (см. рис. 3).

У животных второй опытной группы на 21-е сутки не отмечается статистически значимых изменений перфузионного показателя кожи над областью имплантации скаффолдов относительно контрольных показателей и значений первой опытной группы. Перфузия кожи над областью имплантации матрицы у животных второй опытной группы на 47,4% меньше, чем у крыс группы отрицательного контроля (см. таблицу). На 21-е сутки во второй опытной группе не отмечается значимых изменений активной модуляции кровотока относительно уровня контрольной группы. По сравнению с отрицательным контролем у крыс второй опытной группы в зоне имплантации матриц из ПКЛ и гидроксиапатита нормированные амплитуды миогенных, нейрогенных и дыхательных колебаний ниже на 35,7, 37,6 и 39,4% соответственно. При сравнении параметров, характеризующих активные и пассивные механизмы контроля микроциркуляции, у животных опытных групп установлено, что у крыс, которым имплантировали матрицы на основе ПКЛ и гидроксиапатита, медианное значение амплитуд эндотелиальных осцилляций на 57,8% выше. В других регуляторных диапазонах различий нормированных амплитуд колебаний у животных опытных групп не выявлено.

Таким образом, на 21-е сутки после имплантации небиосовместимых матриц у крыс отмечаются выраженные локальные нарушения микроциркуляции, характеризующиеся увеличением перфузии, нормированных амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний. При имплантации матриц из ПКЛ-волокон, минерализованных соединениями кальция, к 21-м суткам после оперативного вмешательства у животных опытных групп признаков нарушения локального кровотока не выявлено.

Обсуждение. Полученные в эксперименте данные отражают стойкие нарушения локальной микроциркуляции при имплантации крысам небиосовместимых скаффолдов. Указанные нарушения характеризуются значительным увеличением перфузии с перестройкой сопряжения активных механизмов модуляции кровотока, в частности за счет выражен-

ного снижения миогенного тонуса, что проявляется повышением нормированной амплитуды колебаний в данном диапазоне с 7-х по 21-е сутки эксперимента [6]. Стабильное снижение тонуса сосудов преимущественно за счет миогенного компонента, вероятно, обусловлено комплексным влиянием факторов, включая провоспалительные цитокины, выделяемые лейкоцитами, инфильтрирующие матрицы данного типа при субкутанных имплантационных тестах [1]. Вспомогательное значение в увеличении перфузии при имплантации матриц с овальбумином имеет снижение нейрогенного тонуса, так как увеличение нормированных колебаний этого диапазона более вариабельно по сравнению с миогенным. Учитывая, что преимущественной локализацией зоны реализации данного механизма дилатации являются мелкие артериолы [6], рост нормированных амплитуд в данном диапазоне характеризует локальное снижение резистентности сосудистого русла в зоне имплантации небиосовместимых матриц.

При имплантации белым крысам матриц из ПКЛ-волокон, минерализованных ватеритом, при сравнении с контролем отмечено незначительное увеличение показателя перфузии кожи над зоной имплантации, наиболее выраженное на 7-е сутки эксперимента. Значения перфузии кожи достигают нормы к 21-м суткам после имплантации скаффолдов из ПКЛ и ватерита. Не выявлено и значительных изменений показателей активных и пассивных факторов модуляции микроциркуляции. Полученные данные динамического мониторинга биосовместимости, характеризующие полное восстановление кровотока к 21-м суткам эксперимента, соответствуют результатам гистоморфологических и биохимических исследований зоны субкутанной имплантации данного типа матриц [5]. Обнаружено, что имплантация матриц с ватеритом не сопровождается локальной лейкоцитарной инфильтрацией и повышением уровня воспалительных цитокинов в крови.

Результаты динамического мониторинга биосовместимости матриц из ПКЛ и гидроксиапатита демонстрируют незначительные сдвиги перфузии, параметров активной и пассивной модуляции кровотока в микроциркуляторном русле в период 7–14-х суток, которые, так же как и у животных первой опытной группы, полностью нивелируются к 21-м суткам после оперативного вмешательства. Результаты соответствуют локальным тканевым реакциям на фоне слабовыраженного системного воспалительного ответа описанных при подкожных тестах данных матриц [3, 4].

Выраженных различий в динамике локальных изменений перфузии микроциркуляторного русла в зоне имплантации ПКЛ-матриц, минерализованных гидроксиапатитом и ватеритом, не выявлено. Учитывая, что ранее некоторые авторы продемонстрировали биосовместимость ПКЛ-матриц [1, 7, 8], результаты динамического мониторинга сосудистых реакций, представленные в данной работе, свидетельствуют в пользу того, что минерализация волокон матрицы как фосфатными, так и карбонатными солями кальция не оказывает негативного влияния на биосовместимость матриц.

Заключение. Исходя из приведенных данных, следует отметить, что стойкое повышение показателя перфузии с изменением модуляции локального кровотока свидетельствует об отсутствии биосовместимости поликапролактоновых матриц с адсорбированным чужеродным белком. При субкутанной имплантации скаффолдов из ПКЛ, минерализованных ватеритом и гидроксиапатитом, признаков воспалительных изменений перфузии кожи не обнаружено, что подтверждает их биосовместимость. Значимых различий в динамике сосудистых реакций при имплантации матриц с гидроксиапатитом и ватритом не выявлено, что позволяет рекомендовать оба типа минерализации волокон для применения в тканевой инженерии.

Конфликт интересов. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России «Разработка технологии оценки регенераторного потенциала матриц для замещения дефектов костной ткани на основе параметров их васкуляризации». Регистрационный номер АААА-А18-118020290178-3.

Авторский вклад: концепция и дизайн исследования — А. Н. Иванов, И. А. Норкин; получение данных — М. О. Куртукова, С. В. Кустодов, Д. А. Тяпкина; анализ данных — М. О. Куртукова, И. О. Бугаева, А. Н. Иванов; интерпретация результатов — А. Н. Иванов, Ю. А. Чибрикова; написание статьи — Ю. А. Чибрикова, С. В. Кустодов, Д. А. Тяпкина; утверждение рукописи для публикации — И. А. Норкин.

References (Литература)

1. Wang W, Huang B, Byun JJ, Bartolo P. Assessment of PCL/carbon material scaffolds for bone regeneration. J Mech Behav Biomed Mater 2019; (93): 52–60.

2. Ivanov AN, Kozadaev MN, Bogomolova NV, et al. Investigation of cell seeding dynamics and biocompatibility of polycaprolactone scaffold in in vivo. Fundamental research 2015; (1–2): 275–8. Russian (Иванов А. Н., Козадаев М. Н., Богомолова Н. В. и др. Исследование динамики заселения клеточными элементами и биосовместимости скаффолда на основе поликапролактона в условиях in vivo. Фундаментальные исследования 2015; (1–2): 275–8).

3. Ivanov AN, Kozadaev MN, Bogomolova NV, et al. In vivo evaluation of polycaprolactone-hydroxyapatite scaffold biocompatibility. Tsitologiya 2015; 57 (4): 286–93. Russian (Иванов А. Н., Козадаев М. Н., Богомолова Н. В. и др. Исследование биосовместимости матриц на основе поликапролактона и гидроксиапатита в условиях in vivo. Цитология 2015; 57 (4): 286–93).

4. Kozadaev MN, Ivanov AN, Puchinyan DM, Norkin IA. Comparative analysis of microcirculatory changes and cell populations dynamics of polycaprolactone and polycaprolactone-hydroxyapatite scaffolds after subcutaneous implantation. Modern problems of science and education 2015; (5): 612. Russian (Козадаев М. Н., Иванов А. Н., Пучиньян Д. М., Норкин И. А. Сравнительный анализ микроциркуляторных изменений и динамики клеточных популяций скаффолдов на основе поликапролактона и поликапролактона с гидроксиапатитом при субкутанной имплантации. Современные проблемы науки и образования 2015; (5): 612).

5. Saveleva MS, Ivanov AN, Kurtukova MO, et al. Hybrid PCL/CaCO3 scaffolds with capabilities of carrying biologically active molecules: Synthesis, loading and in vivo applications. Materials Science & Engineering C–Materials for biological applications 2018; (85): 57–7.

6. Krupatkin AI. Oscillatory Processes in the Diagnosis of the State of Microvascular-Tissue Systems. Human Physiology 2018; 44 (5): 103–14. Russian (Крупаткин А. И. Значение колебательных процессов в диагностике состояния микроциркуляторно-тканевых систем. Физиология человека 2018; 44 (5): 103–14).

7. Zhang ZZ, Zhang HZ, Zhang ZY. 3D printed poly (ε-caprolactone) scaffolds function with simvastatin-loaded poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres to repair load-bearing segmental bone defects. Exp Ther Med. 2019; 17 (1): 79–90.

8. Tra Thanh N, Ho Hieu M, Tran Minh Phuong N, et al. Optimization and characterization of electrospun polycaprolactone coated with gelatin-silver nanoparticles for wound healing application. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2018; (91): 318–29.