

В.В. Карпович¹, А.Н. Куликов¹, С.В. Чурашов¹,
В.Ф. Черныш¹, М.И. Блинова², Ю.А. Нащекина²,
О.И. Александрова², Ю.И. Хорольская²,
Т.В. Машель^{2,4}, Г.А. Писугина^{2,5},
Д.А. Переплетчикова^{2,4}, П.О. Никонов²,
Е.С. Цобкалло³, О.А. Москалюк³, А.С. Мельников⁴,
П.Ю. Сердобинцев⁴, Д.А. Хороших¹, С.А. Ридель¹

Исследование свойств синтетических полимерных матриц, изготовленных для трансплантации культивированных лимбальных стволовых клеток с целью устранения лимбальной недостаточности

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна, Санкт-Петербург

⁴Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

⁵Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Резюме. Исследованы свойства синтетических полиэфирных матриц, изготовленных из полилактид-гликолида, полилактид-капролактона и поли-ε-капролактона. Установлено, что матрицы из полилактид-гликолида и полилактид-капролактона имеют высокие показатели прозрачности, прочности, но меньшие показатели упругости и эластичности по сравнению с матрицами из поли-ε-капролактона и амниотической мембраны. Выявлено, что прозрачность матриц из поли-ε-капролактона зависит от толщины материала и имеет тенденцию к снижению при увеличении толщины материала, в то время как прозрачность матриц из полилактид-гликолида и полилактид-капролактона при увеличении толщины материала не изменяется. Сроки биodeградации матриц из полилактид-гликолида и полилактид-капролактона толщиной 5 мкм составляют около 30 суток, что сопоставимо со сроками лизирования амниотической мембраны на поверхности роговицы. Показано, что лимбальные стволовые клетки человека и кролика, а также клетки постоянной трансформированной клеточной линии роговицы человека адгезируют на поверхность всех типов исследуемых матриц, в процессе культивирования сохраняют типичное строение актинового цитоскелета, способность к пролиферации и миграции. Выявлены различия во взаимодействии разных клеточных культур с различными типами носителей. Исследованные механические свойства, прозрачность, биосовместимость культивируемых лимбальных стволовых клеток с матрицами и сроки биodeградации матрицы из полилактид-капролактона толщиной 5 мкм близки по свойствам к амниотической мембране. С учетом оптимального сочетания исследованных свойств наиболее приемлемой для использования в качестве носителя культивируемых лимбальных стволовых клеток представляется матрица из полилактид-капролактона толщиной 5 мкм.

Ключевые слова: полилактид-гликолид, полилактид-капролактон и поли-ε-капролактон, прозрачность, биodeградация, биосовместимость, механические свойства, клетки эпителия роговицы, лимбальные стволовые клетки.

Введение. Одной из главных причин сосудистых помутнений роговицы является дисфункция лимбальных эпителиальных стволовых клеток (ЛЭСК), клинически проявляющаяся состоянием, получившим название лимбальной недостаточности (ЛН) [3, 7]. В настоящее время в качестве одного из способов устранения ЛН изучается возможность трансплантации на роговицу культивируемых *in vitro* ЛЭСК [6]. Наиболее распространенным в мире носителем для культивирования ЛЭСК является амниотическая мембрана (АМ) [6, 8]. В то же время дефицит этого материала, наличие определенных трудностей при заготовке, консервировании и использовании АМ для вышеуказанных целей обуславливает поиск новых видов носителей, изготавливаемых из биологических или синтетических материалов. Оптимальными характеристиками матриц-носителей для ЛЭСК являются прозрачность (возможность оценки адгезии и жизнеспособности клеток на поверхности матрицы

под микроскопом, а также возможность наблюдения за глазной поверхностью после трансплантации матрицы), прочность (достаточная для подшивания матрицы к глазной поверхности), эластичность и низкая упругость (для равномерного распределения матрицы на глазной поверхности без формирования складок), способность к биodeградации в пределах 3–4 недель [2]. Такими свойствами, необходимыми для трансплантации на роговицу культивированных клеток, обладает АМ. По данным литературы, могут быть пригодны и матрицы на основе полилактид-гликолида (ПЛГ) [4, 5], полилактид-капролактона (ПЛК) и поли-ε-капролактона (ПКЛ) [9, 11].

Цель исследования. Сравнительное исследование прозрачности, механических свойств, биосовместимости с культивируемыми клетками и сроков биodeградации синтетических полиэфирных матриц из ПЛГ, ПЛК и ПКЛ как возможных носителей для

культивируемых лимбальных стволовых клеток (ЛСК) с целью устранения ЛН.

Материалы и методы. Исследовали матрицы из ПЛГ, ПЛК, ПКЛ, а также нативную АМ человека в качестве контроля. Для приготовления матриц использовали поли-L-лактид-гликолид (85/15) ($h=3,13$ дл/г, Purac), поли-L-лактид-капролактон (85/15) ($h=1,66$ дл/г, Purac), поли-ε-капролактон (Mn 80,000, Sigma). Полимеры растворяли в трихлорметане до конечной концентрации 2 мг/мл и наносили на предметные стёкла. После испарения растворителя на воздухе матрицы сушили при температуре 37°C до постоянной массы. Толщина образцов каждой из исследуемых синтетических матриц составляла 5, 10, 15 мкм.

Для исследования прозрачности использовали гелий-неоновый лазер с длиной волны 632,8 нм и измеритель профиля пучка «BC106N» (Thorlabs). Выполняли определение величины диффузного рассеяния света при прохождении через исследуемый материал. Прозрачность плёнок рассчитывали из соотношения $I=a/b$, где a – интенсивность света, прошедшего сквозь объект, внутри угла 2,5° (то есть $\pm 1,25^\circ$ относительно оси), b – полная интенсивность света, прошедшего сквозь объект.

Исследование механических свойств синтетических матриц и АМ выполняли на универсальной установке «INSTRON 1122» в режиме одноосного растяжения. Скорость испытаний составляла 10 мм/мин. Исследовали матрицы толщиной 5, 10 и 15 мкм. В процессе испытаний записывали диаграммы растяжения материалов, на основе которых определялись следующие величины: прочность (σ_p) в мегапаскалях (МПа); эластичность (ϵ) – относительное удлинение при разрыве в %; модуль упругости (E) в МПа.

Для оценки биосовместимости матриц из ПЛГ, ПЛК, ПКЛ использовали первичные культуры ЛСК человека и кролика, а также клетки постоянной трансформированной клеточной линии роговицы человека (НЕСЕ). ЛСК человека и кролика были выделены в Институте цитологии Российской академии наук (Санкт-Петербург) из тканей здоровых доноров по методике Sefat et al. [10]. ЛСК человека и кролика культивировали в питательной среде ДМЕМ/F12 фирмы «Gibco» (Соединенные Штаты Америки – США), содержащей 2 ммоль/л глутамин фирмы «GlutaMax» (США), 10% FBS фирмы «HyClone» (США) и 1% раствор антибиотиков PenStrep фирмы «Gibco» (США). Клетки линии НЕСЕ были получены из коллекции Института цитологии Российской академии наук. Клетки культивировали в питательной среде Keratinocyte-SFM фирмы «Gibco» (США), содержащей 2 ммоль/л глутамин GlutaMax (США), 10% FBS фирмы «HyClone» (США) и 1% раствор антибиотиков PenStrep фирмы «Gibco» (США). ЛСК человека и кролика высевали на поверхность матриц в концентрации 2×10^4 клеток/см², а клетки НЕСЕ – в концентрации 5×10^4 клеток/см². В качестве контроля использовали клетки, культивируемые на необработанной стеклянной поверхности. Все типы клеток культивировали при 37°C в CO₂-инкубаторе в атмосфере 5% CO₂.

Жизнеспособность и способность клеток к адгезии оценивали по их морфологии с использованием фазово-контрастной микроскопии (ФКМ) при помощи инвертированного микроскопа «Nikon Eclipse TS100».

Анализ организации актинового цитоскелета распластных на матрицах клеток проводили с помощью системы флуоресцентной визуализации клеток ZOE™ фирмы «Bio-Rad» (США). Для визуализации актиновых микрофиламентов проводили гистохимическое окрашивание родамин-фаллоидином фирмы «Invitrogen» (США) фиксированных в 4% растворе параформальдегида композиций клеточных культур и матриц. Перед окрашиванием проводили пермеабиллизацию клеток с использованием 0,1% раствора тритона X100. Препараты заключали в среду, содержащую флуоресцентный краситель 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) фирмы «Santa Cruz Biotechnology» (США).

Способность клеток к миграции с поверхности матрицы на прилегающие ткани оценивали с помощью *in vitro*-модели с использованием коллагеновых гидрогелей. В культуральных планшетах формировали гидрогели на основе коллагена 1-го типа, произведенного в Институте цитологии Российской академии наук по методике, описанной ранее [1]. ЛСК человека высевали на матрицы и через 12 ч после адгезии клеток матрицы с клетками переносили на поверхность гидрогелей (клетками вниз), затем культивировали в стандартных условиях в течение месяца. На разных сроках культивирования проводили фотофиксацию и оценивали морфологию клеток и их относительное количество в процессе исследования под инвертированным микроскопом «Nikon Eclipse TS100», оснащенным фотокамерой.

Пролиферативную активность оценивали при помощи пробы с генциановым фиолетовым. Клетки высевали на поверхность матриц и культивировали в течение 48 ч в стандартных условиях. Затем их фиксировали 70% этиловым спиртом и окрашивали 0,1% водным раствором генцианового фиолетового. Краситель экстрагировали 7% раствором уксусной кислоты. Оптическую плотность полученных растворов измеряли с помощью анализатора «Fluorofot Charity» (Россия).

Сроки биодegradации (в днях) исследовали только для матриц из ПЛГ и ПЛК, поскольку матрицы из ПКЛ были исключены по результатам оценки прозрачности и механических свойств. Исследование выполняли на 6 кроликах (12 глаз). В 1-й группе (6 правых глаз) выполняли подшивание на поверхность роговицы матриц из ПЛГ, различных по толщине: 5 мкм – 2 глаза, 10 мкм – 2 глаза, 15 мкм – 2 глаза. Во 2-й группе (6 левых глаз) использовали аналогичные матрицы из ПЛК. Консервативное лечение проводили в объеме: инстилляции декса-гентамицина 3 раза в день (до 21 сут). Сроки наблюдения составили 3, 10, 21, 30, 45 и 60 сут. В ходе наблюдения выполняли биомикроскопию с фоторегистрацией процесса биодegradации матриц в динамике. Полученные значения механических свойств изучаемых синтетических матриц и сроки биодegradации сравнивали с таковыми у АМ.

Математическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики при помощи программы Microsoft Excel 2016. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Обнаружено, что во всех образцах матриц из ПЛГ и ПЛК с толщиной 5, 10 и 15 мкм рассеяние пучка света происходило в телесный угол менее $1,5^\circ$. При этом более 99% излучения попадало в угол $0,26^\circ$. Таким образом, прозрачность данных матриц составила 98–99%. Степень прозрачности матриц из ПКЛ снижалась в зависимости от толщины материала. Для таких плёнок толщиной 5, 10, 15 мкм показатели прозрачности составили 73, 41 и 33% соответственно.

Результаты исследований механических свойств синтетических матриц и АМ в режиме одноосного растяжения представлены в таблице.

Показано, что ЛСК человека и кролика, а также клетки НСЕС адгезируют на поверхности всех типов исследуемых синтетических полимерных матриц и в процессе культивирования на них сохраняют типичное строение актинового цитоскелета, способность к пролиферации и миграции. Выявлены различия во взаимодействии разных клеточных культур с различными типами матриц.

Результаты прижизненного наблюдения за морфологическим состоянием ЛСК человека и кролика, а также клеток НСЕС в процессе их культивирования на синтетических полиэфирных матрицах из ПЛГ, ПЛК и ПКЛ приведены на рисунке 1.

На рисунке 1 видно, что ЛСК человека и кролика, а также клетки линии НСЕС в контроле хорошо распластаны, имеют типичную морфологию и на 2-е сутки культивирования формируют субконфлюэнтный монослой (рис. 1 А, Е, I). Морфология ЛСК кролика, культивируемых на всех исследуемых типах матриц, не отличалась от контроля, однако плотность клеток была несколько меньше. ЛСК человека и НСЕС при культивировании на матрицах из ПЛК и ПКЛ не образовывали субконфлюэнтного монослоя на 2-е сутки и группировались на различных участках матриц. По матрице из ПЛГ ЛСК и НСЕС распределялись равно-

мерно, однако их плотность была несколько меньше, чем в контроле.

Выявлено, что в контроле независимо от клеточного типа наблюдалась более активная пролиферация всех типов клеток. Однако при культивировании на матрицах клетки сохраняли способность к делению. На 2-е сутки культивирования на матрицах было достаточное количество жизнеспособных клеток для поддержания популяции. Для ЛСК кролика и клеток НСЕС количество клеток на всех типах матриц было примерно одинаковым. Однако для ЛСК человека наиболее предпочтительной оказалась матрица из ПЛГ (рис. 2).

В ходе анализа организации актинового цитоскелета ЛСК кролика, распластаных на матрицах (рис. 3), показано, что клетки на всех экспериментальных образцах были хорошо распластаны, имели характерную для данного типа форму и размер. Актин в основном сосредоточен в пучках филаментов. Межклеточные контакты практически отсутствовали как в контроле, так и в экспериментальных вариантах. Во всех случаях наблюдали митотическую активность.

In vitro было показано, что ЛСК человека начинают мигрировать с поверхности матриц на прилегающий коллагеновый гидрогель в течение 24 ч. Однако скорость миграции была достаточно низкой, наибольшая миграционная активность наблюдалась в области контакта края матрицы и коллагенового геля. Выявлено, что клетки мигрируют не только на поверхность гидрогеля, но и в его толщу. К концу 4-й недели культивирования наблюдается большое количество клеток на поверхности и в толще гидрогеля (рис. 4), а также и на поверхности матрицы. Скорость и активность миграции ЛСК с матриц разных типов была сопоставима с контролем.

В результате наблюдения биодеградации матриц на основе ПЛГ на 3-и сутки ни в одном случае признаков деградации материала выявлено не было. На 10-е сутки отмечали истончение краев матриц в области наложения швов только на образцах толщиной 5 мкм. На 21-е сутки на матрицах толщиной 5 мкм появлялись отдельные участки деструкции материала, а на матрицах толщиной 10 мкм – дефекты материала в области швов; на матрицах 15 мкм никаких изменений целост-

Таблица

Количественные значения механических свойств синтетических матриц и АМ

Образец	Прочность σ_p , МПа	Относительное удлинение при разрыве ϵ_p , %	Начальный модуль упругости E, МПа
ПЛК 5 мкм	27±5	3,5±1	1652±300
ПЛК 10 мкм	29±3	4,3±2	2190±220
ПЛК 15 мкм	33±5	4,7±0,8	2186±575
ПЛГ 5 мкм	40±9	3,2±0,6	2275±550
ПЛГ 10 мкм	50±6	3,2±1,2	2730±230
ПЛГ 15 мкм	51±4	3,6±1	2578±330
ПКЛ 5 мкм	13±3	142±190 (min 15%, max – 430%)	309±67
ПКЛ 10 мкм	9±2	30±9	349±54
ПКЛ 15 мкм	14±1	71±38	349±40
Амниотическая мембрана	0,8±0,2	50±11	0,19±0,07

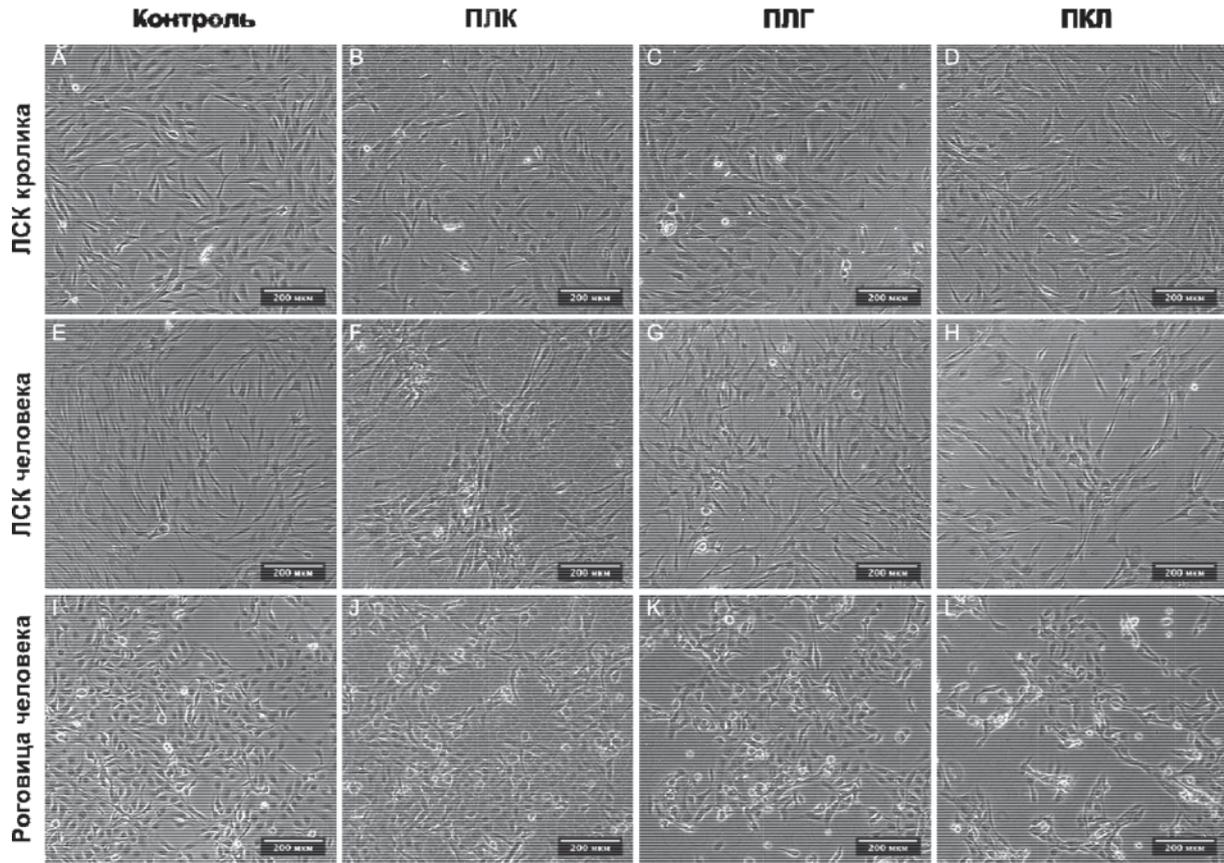


Рис. 1. Морфология ЛСК кролика (А – D), человека (Е – Н) и эпителия роговицы человека (I – L) на 2-е сутки культивирования на поверхности матриц на основе ПЛК, ПЛГ и ПКЛ. Масштабная линейка – 200 мкм

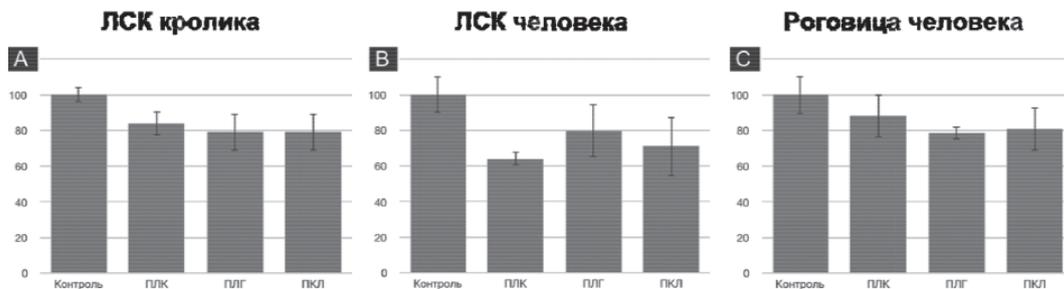


Рис. 2. Количественная оценка состояния клеточных культур на поверхности матриц на основе ПЛК, ПЛГ и ПКЛ. Данные представлены в виде среднего значения оптической плотности экстрагированного из клеток красителя генцианового фиолетового, выраженной в процентах от контроля \pm стандартное отклонение

ности материала не было. На 30-е сутки отмечался полный дефект материала в оптической зоне матриц толщиной 5 мкм. На матрицах толщиной 10 мкм появлялись отдельные участки деградации. Матрицы в 15 мкм претерпевали лишь начальные изменения целостности в области наложения швов. На 45-е и 60-е сутки наблюдалась полная деградация матриц толщиной 10 и 15 мкм соответственно.

На 3-и сутки первые признаки деградации появлялись лишь у матриц на основе ПЛК, имеющих толщину 5 мкм. На 10-е сутки на матрицах толщиной 5 мкм появлялись участки деградации; начальные признаки деградации материала в области швов отмечались на

образцах в 10 мкм. На 21-е сутки наблюдалась практически полная деструкция матриц толщиной 5 мкм. На матрицах толщиной 10 и 15 мкм отмечалось появление областей деструкции и признаков начальной деградации соответственно. На 30-е сутки образцы толщиной 5 мкм полностью деградировали. Образцы матриц толщиной 10 мкм деградировали более чем на 50%. Образцы толщиной 15 мкм имели изменения в виде островковых областей деструкции. На 45-е и 60-е сутки наблюдалась полная деградация матриц толщиной 10 и 15 мкм соответственно. По данным литературы, сроки деградации АМ составляют около 3–4 недель [2].

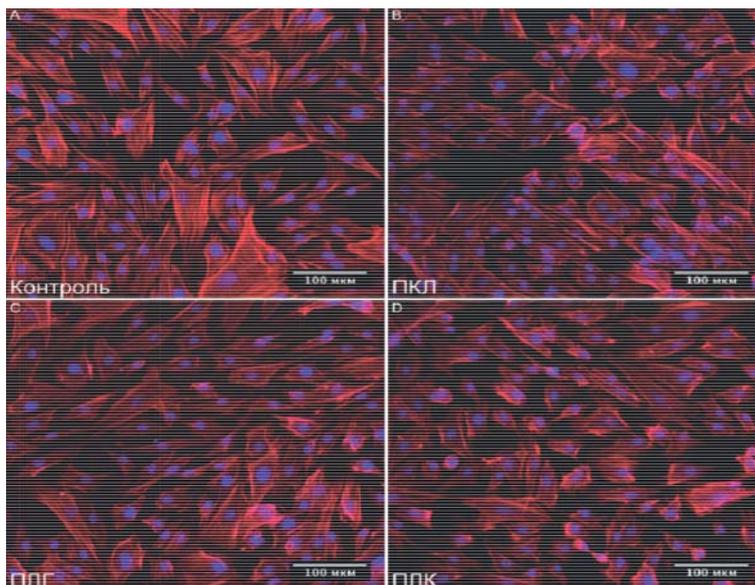


Рис. 3. ЛСК кролика, распластанные на различных матрицах. Актиновый цитоскелет окрашен родамиин-фаллоидином (красный), ядра – DAPI(синий). Масштабная линейка – 100 мкм

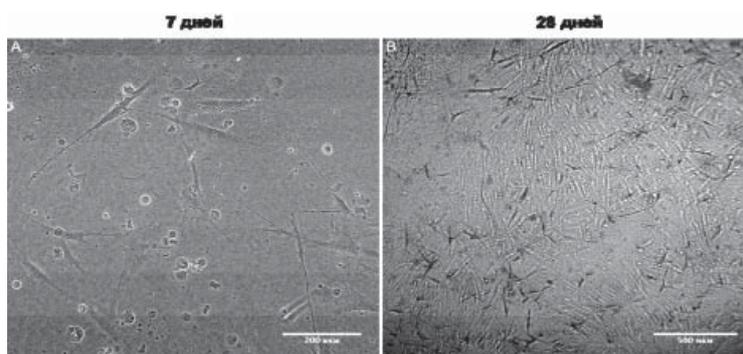


Рис. 4. ЛСК человека, мигрировавшие с полиэфирных матриц на коллагеновый гидрогель через 7 дней (А) и 28 дней (В) после переноса матрицы на коллагеновый гель. Масштабная линейка – 200 мкм (А) и 100 мкм (В)

Установлено, что прозрачность матриц из ПКЛ зависит от толщины материала и имеет тенденцию к снижению при увеличении толщины материала, в то время как прозрачность матриц из ПЛГ и ПЛК при увеличении толщины материала не изменяется. Поэтому показатели прозрачности матриц на основе ПЛГ и ПЛК отличались незначительно и были в пределах 98–99%, существенно превышая показатели матриц из ПКЛ (33–73%).

Матрицы из ПЛГ имеют достаточно высокую прочность, но низкую эластичность и чрезмерно высокую упругость. Матрицы из ПЛК имеют меньшую прочность, чем матрицы из ПЛГ, однако более высокую эластичность и низкую упругость. Матрицы из ПКЛ имеют низкие показатели прочности, однако более высокую эластичность и меньшую упругость в сравнении с матрицами из ПЛК и ПЛГ.

Оценка биосовместимости синтетических полимерных матриц в условиях *in vitro* с использованием клеточных тест-систем показала, что на поверхности матриц возможно поддержание клеточных культур в условиях *in vitro*. Клетки сохраняют типичную морфо-

логию и хорошо распластываются. Однако адгезия и пролиферация как ЛСК, так и НСЕС на поверхности матриц была ниже, чем в контроле. По результатам исследования *in vitro* нельзя однозначно назвать матрицу, наиболее подходящую по необходимым критериям для культивирования клеток тканей глаза. ЛСК кролика адгезируют, пролиферируют и мигрируют на всех вариантах матриц сопоставимо друг с другом. Для ЛСК и эпителиальных клеток роговицы человека наиболее предпочтительной оказалась матрица из ПЛГ, так как распределение клеток на ней было более равномерным, хотя результаты колориметрического анализа показывают, что на количестве клеток на разных типах матриц это практически не отражается.

Также показано, что матрицы, заселенные клетками, способны выступать в качестве «транзитного средства» и могут обеспечить доставку клеток в поврежденную область при трансплантации на раневую поверхность. Модель с использованием коллагеновых гидрогелей *in vitro* позволяет предположить, что для обеспечения поврежденной области достаточным

количеством клеток требуется не менее 3–4 недель. Однако модель *in vitro* не полностью соответствует условиям, в которых оказываются клетки после трансплантации, и для определения более точных сроков необходимо провести дальнейшие исследования с использованием моделей *in vivo*.

Матрицы из ПЛК были исключены из исследований сроков биodeградации в условиях *in vivo*, так как значительно уступали по прозрачности и прочности матрицам из ПЛГ и ПКЛ. При сравнении сроков биodeградации было выявлено, что матрицы из ПЛК (5 мкм) начинали заметно деградировать уже на 10-е сутки, в то время как на образцах матриц из ПЛГ (5 мкм) достоверные признаки деградации наблюдались значительно позже (21-е сутки). Полная биodeградация матриц из ПЛК с толщиной 5 мкм занимала не более 30 суток. Следовательно, скорость биodeградации матриц из ПЛК протекает быстрее, чем из ПЛГ, и по своим срокам сопоставима со сроками лизирования АМ на поверхности роговицы [2]. Таким образом, наиболее благоприятное для трансплантации ЛСК сочетание изучаемых свойств оказалось у матриц из ПЛК.

Выводы

1. Рассмотренные механические свойства, прозрачность, биосовместимость культивируемых клеток с матрицами и время биodeградации матрицы из ПЛК толщиной 5 мкм близки по свойствам к АМ.

2. Матрицы толщиной 5 мкм могут рассматриваться как возможные носители культивируемых лимбальных стволовых клеток для трансплантации на роговицу с целью устранения лимбальной недостаточности.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ № 14–50–00068.

Литература

1. Безушко, А.В. Исследование возможности применения культивированных аутологичных лимбальных эпителиальных стволовых клеток на коллагеновом скаффолде для устранения лимбальной недостаточности в эксперименте / А.В. Безушко [и др.] // *Практ. мед.* – 2017. – Т. 2 (9). – С. 32–37.
2. Нероев, В.В. Ожоги глаз: руководство для врачей / В.В. Нероев [и др.] – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 224 с.
3. Черныш, В.Ф. Ожоги глаз – состояние проблемы и новые подходы / В.Ф. Черныш, Э.В. Бойко. – СПб.: ВМА, 2017. – 136 с.
4. Deshpande, P. Using poly(lactide-coglycolide) electrospun scaffolds to deliver cultured epithelial cells to the cornea / P. Deshpande [et al.] // *Regen. Med.* – 2010. – Vol. 5 (3). – P. 395–401.
5. Deshpande, P. Simplifying corneal surface regeneration using a biodegradable synthetic membrane and limbal tissue explants / P. Deshpande [et al.] // *Biomaterials.* – 2013. – Vol. 34 (21). – P. 5088–106.
6. Grueterich, M. Ex vivo expansion of limbal epithelial stem cells: amniotic membrane serving as a stem cell niche / M. Grueterich, E.M. Espana, S.C. Tseng // *Surv Ophthalmol.* – 2003. – Vol. 4 (6). – P. 631–646.
7. Holland, E.J. Classification of Ocular Surface Disease. *Ocular Surface Disease: Medical and Surgical Management* / E.J. Holland, M.J. Mannis. // Springer Science & Business Media. – 2002. – P. 29–31.
8. Pellegrini, G. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium / G. Pellegrini [et al.] // *Lancet.* 1997. – Vol. 349 (9057). – P. 990–993.
9. Redenti, S. Retinal tissue engineering using mouse retinal progenitor cells and a novel biodegradable, thin-film poly(ε-caprolactone) nanowire scaffold / S. Redenti [et al.] // *J. Ocul. Biol. Dis. Infor.* – 2008. – № 1 (1). – P. 19–29.
10. Sefat, F. Production, Sterilisation and Storage of Biodegradable Electrospun PLGA Membranes for Delivery of Limbal Stem Cells to the Cornea / F. Sefat [et al.] // *Procedia Engineering.* – 2013. – Vol. 59. – P. 101–116.
11. Sharma, S. Cellular response of limbal epithelial cells on electrospun poly-ε-caprolactone nanofibrous scaffolds for ocular surface bioengineering: a preliminary *in vitro* study / S. Sharma [et al.] // *Molecular Vision.* – 2011. – Vol. 17. – P. 2898–2910.

V.V. Karpovich, A.N. Kulikov, S.V. Churashov, V.F. Chernysh, M.I. Blinova, Yu.A. Nashchekina, O.I. Alexandrova, Y.I. Khorolskaya, T.V. Machel, G.A. Pisugina, D.A. Perepletchikova, P.O. Nikonov, E.S. Tsobkallo, O.A. Moskalyuk, A.S. Melnikov, P.Y. Serdobintsev, D.A. Khoroshih, S.A. Riedel

Research of the properties of synthetic polymer matrices made for transplantation of cultured limbal stem cells to eliminate a limbal deficiency

Abstract. The properties of synthetic polyester matrices made of polylactide-glycolide, polylactide-caprolactone and poly-ε-caprolactone are investigated. It was established that the matrix of polylactide-glycolide and polylactide-caprolactone have high levels of transparency, strength, but fewer indicators of elasticity and elasticity compared with poly-ε-caprolactone matrices and amniotic membrane. It was revealed that the transparency of the poly-ε-caprolactone matrices depends on the material thickness and tends to decrease with increasing material thickness, while the transparency of the polylactide-glycolide and polylactide-caprolactone matrices does not change with increasing material thickness. The terms of biodegradation of polylactide-glycolide and polylactide-caprolactone matrices with a thickness of 5 μm are about 30 days, which is comparable to the degradation time of the amniotic membrane on the surface of the cornea. It has been shown that human and rabbit limbal stem cells, as well as the cells of a human corneal epithelial cell line, adhere to the surface of all types of matrices under study, retain the typical structure of the actin cytoskeleton, the ability to proliferate and migrate during cultivation. Differences in the interaction of different cell cultures with different types of carriers were revealed. The studied mechanical properties, transparency, biocompatibility of cultured limbal stem cells with matrices and the timing of biodegradation of a 5 micron-thick polylactide-caprolactone matrix are close to the amniotic membrane. Taking into account the optimal combination of the investigated properties, the most acceptable for use as a carrier of cultured limbal stem cells is a polylactide-caprolactone matrix with a thickness of 5 μm.

Key words: polylactide-glycolide, polylactide-caprolactone, poly-ε-caprolactone, transparency, biodegradation, biocompatibility, mechanical properties, corneal epithelial cells, limbal stem cells.

Контактный телефон: 8-981-902-03-03; e-mail: vmeda-nio@mail.ru