

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИММУННОЙ И НЕРВНОЙ СИСТЕМ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ РСІ-СКАФФОЛДОВ В ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ХИРУРГИИ

Г.П. Косякова¹, А.А. Муслимов², А.И. Лысенко³

¹ Отдел нейрофармакологии им. С.В. Аничкова,

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;

² НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Санкт-Петербург;

³ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Отдел биотехнологий НИЦ ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

INTERACTION OF IMMUNE AND NERVOUS SYSTEMS WHEN USING PCL SCAFFOLDES IN MAXILOFACIAL SURGERY

G.P. Kosyakova¹, A.A. Muslimov², A.I. Lysenko³

¹ Department of Neuropharmacology S.V. Anichkova, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

² Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology named after R.M. Gorbacheva, Saint Petersburg, Russia;

³ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Department of Biotechnology, Saint Petersburg, Russia

Важным параметром матриц-скаффолдов является биосовместимость. Оценка биосовместимости проводится в несколько этапов. На первом этапе определяют его совместимость с культурами клеток *in vitro*. На втором этапе *in vivo* биосовместимость оценивают путем исследования гистологических препаратов биоптатов тканей, полученных из области имплантации скаффолдов у экспериментальных животных. Поэтому ставятся следующие задачи: определить иммунологическую совместимость клеток крови кроликов при хирургическом внедрении скаффолдов и оценить нервный стресс при операциях.

В наших исследованиях представленные pcl-скаффолды это полимерные биоразлагаемые матрицы представляют собой поликапролактон и полигидроксибутират. Капсулы состоят из полипептидов и полисахаридов, оболочка которых покрыта слоем силикатных наночастиц.

Ключевые слова: скаффолды; матрицы; биосовместимость; мезенхимальные клетки; инплантация; культивирование клеток; тканевая инженерия.

An important parameter of scaffold matrices is biocompatibility. Biocompatibility assessment is carried out in several stages. At the first stage, its compatibility with *in vitro* cell cultures is determined. At the second *in vivo* stage, biocompatibility is assessed by examining histological preparations of tissue biopsies obtained from the area of implantation of scaffolds in experimental animals. Therefore, the following tasks are set: to determine the immunological compatibility of the blood cells of rabbits during the surgical introduction of scaffolds and to evaluate the nervous stress during operations. In our studies, the pcl scaffolds presented are polymeric biodegradable matrices that are polycaprolactone and polyhydroxybutyrate. Capsules consist of polypeptides and polysaccharides, the shell of which is coated with a layer of silicate nanoparticles.

Keywords: scaffolds; matrices; biocompatibility; mesenchymal cells; implantance; cell cultivation; tissue engineering.

Введение. Скаффолды — это трехмерные пористые или волокнистые матрицы, обеспечивающие механический каркас для клеток. Их имплантация позволяет быстро заместить дефект и восстановить функции поврежденных тканей. Скаффолды представляют собой имитацию внеклеточного матрикса и для их изготовления в настоящее время используют природные и синтетические полимеры, керамику. Скаффолды должны обладать рядом свойств, позволяющих сформировать полноценную ткань: биосовместимость и отсутствие иммунологического отторжения, наличие адгезивной поверхности, способствующей пролиферации клеток, пористость, нетоксичность [1].

Материал и методы. РСІ-скаффолды это полимерные биоразлагаемые матрицы представ-

лены НИИ детской онкологии и гематологии им. Р.М. Горбачевой в качестве экспериментальных животных в 2018 году использованы кролики породы Сибирская Шиншилла. А также использованы скаффолды — системы с инкапсулированными на ней веществами. Образцы представлены в виде полимерных биоразлагаемых матриц, содержащих на своей поверхности полиэлектролитные силикатные капсулы с дексаметазоном и антибиотиком — цефтриаксоном. В опыте исследовали 4 группы кроликов: контрольная группа кроликов, группа с инплантацией скаффолдов с антибиотиком, с инплантацией скаффолдов с мезенхимальными клетками, скаффолдов с мезенхимальными клетками для стимуляции остеогенеза хирургическим методом.

Методика оперативного вмешательства. Отработаны три модели. 1-я модель — внутриротовая рана. Под общим обезболиванием производится разрез слизистой и надкостницы в области альвеолярного отростка верхней челюсти кролика с вестибулярной стороны между резцами и жевательными зубами. Оголяется передняя поверхность тела верхней челюсти. В рану вводится скаффолд с антибиотиком и фиксируется узловыми швами. Рана не ушивается. Контрольной группе животных проводится аналогичное вмешательство, но вводится «пустой» скаффолд.

2-я модель — тонкий биотип. Под общим обезболиванием производится пародонтальный разрез слизистой в области 1–2 жевательных зубов с вестибулярной стороны. Откидывается слизисто-надкостничный лоскут, обнажается наружная кортикальная пластинка. В область дефекта укладывается скаффолд с клетками/без клеток и фиксируется титановыми шурупами. Слизисто-надкостничный лоскут возвращается на место и фиксируется узловыми швами. Контрольной группе животных проводится аналогичное вмешательство, но вводится «пустой» скаффолд.

3-я модель — под общим обезболиванием производится разрез слизистой от резцов до жевательных зубов по вершине альвеолярного гребня. Откидывается слизисто-надкостничный лоскут, обнажается гребень. С помощью трепана формируем костные дефекты одинакового размера. В область дефектов укладывается скаффолд с клетками/без клеток и фиксируется титановыми шурупами. Слизисто-надкостничный лоскут возвращается на место и фиксируется узловыми швами. Контрольной группе животных проводится аналогичное вмешательство, но скаффолд не вводится.

Был сделан забор крови и костного мозга у кроликов в отделе биотехнологий НИЦ ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова при экспансии клеток стромы в нижнюю челюсть при хирургическом вмешательстве под наркозом. Кролики А, В, С, D, E наблюдались до забора костного мозга и после в течении 1,5 месяца. Цитогенетический анализ и морфофункциональные изменения клеточного ядра клеток в организме живот-

ных из разных популяций клеток проводили на программно-аппаратном комплексе AXIO Imager A1 — микроскопе Zeiss производство Германия. Периферическую кровь у кроликов забирали из ушной вены, каплю крови наносили на предметное стекло, высушивали на воздухе и фиксировали 96 % этиловым спиртом. Далее проводили окраску по Романовскому – Гимза. Для определения частоты встречаемости мононуклеаров периферической крови анализировали не менее 1000 клеток от каждой особи.

Результаты и их обсуждение. В наших исследованиях представлены рс1-скаффолды. Это полимерные биоразлагаемые матрицы, представляющие собой поликапролактон и полигидроксibuтират. Капсулы состоят из полипептидов и полисахаридов, оболочка которых покрыта слоем силикатных наночастиц.

Для определения биосовместимости и отсутствия иммунологического отторжения нами изучалась лейкоцитарная формула периферической крови контрольных и опытных кроликов которая представлена в таблице 1. По результатам видно нетоксичность рс1-скаффолдов, наличие адгезивной поверхности, способствующей пролиферации клеток. Состояние кроликов через 1,5 месяца после применения удовлетворительное, шерсть гладкая, температура нормальная, подвижность в норме.

По результатам исследования видно нетоксичность рс1-скаффолдов, так как видно наличие адгезивной поверхности, способствующей пролиферации клеток и отсутствие различий между контролем и опытом по лейкоцитарным клеткам (табл. 1). Заживление тканей у кроликов и отсутствие воспалительного процесса показывает биосовместимость рс1-скаффолдов и тканей ротовой полости. Но, необходимо признать недостаточность проведенных исследований лейкоцитарной формулы для объективного заключения о биологическом эффекте биологических структур скаффолдов на популяции клеток крови кроликов. Поэтому оценивали частоту встречаемости разрушенных ядросодержащих клеток в периферической крови кроликов с инплантацией скаффолдов с антибиотиком, скаффолдов с мезенхимальными клетками и в группе

Таблица 1

Лейкоцитарная формула периферической крови опытных и контрольных кроликов при применении рс1-скаффолдов в челюстно-лицевой хирургии

К-ки кр-ви	n	Эозинофилы, %	Нейтрофилы, %	Моноциты, %	Лимфоциты, %	Разрушенные ядросодержащие клетки, %
1	5	2,52 ± 0,23	27,1 ± 0,68	2,50 ± 0,16	67,1 ± 0,82	2,14 ± 0,13
2	5	2,36 ± 0,20	26,1 ± 0,44	2,58 ± 0,17	67,9 ± 0,63	1,34 ± 0,32*
3	5	2,51 ± 0,18	27,3 ± 0,79	2,72 ± 0,15	68,3 ± 0,86	1,20 ± 0,16*
4	5	2,40 ± 0,22	26,1 ± 0,83	2,37 ± 0,22	66,6 ± 0,60	1,64 ± 0,15**

Примечание. * Различия достоверны при $p < 0,001$, $p < 0,05$ по отношению к контролю; (t -критерий Стьюдента).

кроликов с инплантацией скаффолдов с мезенхимальными клетками для стимуляции остеогенеза и контрольной популяцией клеток.

В ходе работы были определены контрольные показатели крови опытных кроликов, а также незначительные достоверные изменения ($p < 0,001$), произошедшие у животных в группах с инплантацией скаффолдов с антибиотиком ($1,34 \pm 0,32$), скаффолдов с мезенхимальными клетками ($1,20 \pm 0,16$) в группе кроликов при ($p < 0,05$) с инплантацией скаффолдов с мезенхимальными клетками для стимуляции остеогенеза ($1,64 \pm 0,15$) и контрольной популяцией клеток (табл. 1).

Выводы. Исследования по инплантации рс1-скаффолдов показали, что в медицинской практике применение клеточных матриц в тканевой инженерии вполне могут занять достойное место и могут быть востребованы, в наших исследованиях гомеостаз крови не нарушается у кроликов и поэтому доказана иммунологическая безопасность инплантированных рс1-скаффолдов. Поэтому культивирование клеток на трехмерных подложках-носителях естественного или искусственного происхождения с целью пространственного формирования будущего клеточного органа или его фрагмента для трансплантата применяется сейчас очень широко [1].

Литература

1. Садовой М.А, Ларионов П.М., Самохин А.Г., Рожнова О.М. Клеточные матрицы (скаффолды) для целей регенерации кости: современное состояние проблемы // Хирургия позвоночника. – 2014. – № 2. – С. 79–86.