

УДК 57.086.33; 615.40.54
©Коллектив авторов

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ МАТРИКСОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ ИЗ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА И ЕГО КОМПОЗИТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЯ

И.И. Жаркова^{1}, О.В. Староверова², В.В. Воинова¹, Н.В. Андреева¹,
А.М. Шушкевич³, Е.Д. Склянчук³, Г.М. Кузьмичева², А.Е. Беспалова¹,
Е.А. Акулина¹, К.В. Шайтан¹, А.А. Ольхов²*

¹Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,
119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; тел.: (495) 930-63-06;
эл. почта: iblkr@mail.ru

²Московский государственный университет тонких химических технологий
имени М.В. Ломоносова, Москва

³Московский государственный медико-стоматологический университет
имени А.И. Евдокимова, Москва

Конструирование матриксов для тканевой инженерии из биоразлагаемых полимеров – перспективное направление в биоинженерии. В настоящей работе были изготовлены матриксы из биополимера поли-3-оксибутирата (ПОБ) методом электроформования с использованием различных добавок, изменяющих физико-химические характеристики изделий. В результате получились структуры, состоящие из переплетённых нитей различного диаметра (0,8-3,4 мкм); наименьший диаметр наблюдался у нитей из ПОБ с использованием в качестве добавок тетрабутиламмоний йодида (ТБАИ) и оксида титана II (TiO₂).

Для оценки биосовместимости полученных материалов на этих матриксах культивировали мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Наиболее благоприятной подложкой для роста клеток являются матриксы из переплетённых нитей самого низкого диаметра, в сравнении с полимерной пленкой и с матриксами из нитей большего диаметра. Таким образом, была показана зависимость биосовместимости полимерных матриксов, полученных методом электроформования, от их микроструктуры, что может быть использовано в тканевой инженерии.

Ключевые слова: поли-3-оксибутират, электроформование, биосовместимость, МСК.

ВВЕДЕНИЕ

Среди биоразлагаемых полимеров природного происхождения особое место занимают полиоксиалканоаты (ПОА), из которых наиболее интенсивно исследуемым полимером является поли-3-оксибутират (ПОБ) [1, 2]. Этот природный биополимер, получаемый биотехнологическим путём [3-5], обладает такими ценными для применения в медицине биологическими свойствами, как биосовместимость [6-8] и способность к биоразложению в живых тканях без образования токсических продуктов [2, 9-12]. При этом ПОБ обладает и относительно хорошими физико-химическими свойствами

[6-8, 13, 14], подходящими для изготовления различных медицинских изделий и фармацевтических форм. В связи с этим, ПОБ используется для разработки целого ряда изделий медицинского назначения для герниопластики, стоматологии, кардиохирургии, ортопедии и других областей. Так, на основе этого полимера были получены: биоразлагаемые шовные нити, биодеградируемые крепежные винты и скобы для хирургии костей, пародонтологические мембраны в стоматологии, хирургические сетки с покрытиями на основе ПОБ, раневые покрытия, хирургические заплаты для закрытия дефектов кишечника, перикарда или костных тканей и некоторые другие [1, 2]. Кроме того, ПОБ используется

* - адресат для переписки

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ МАТРИКСОВ ИЗ ПОБ И ЕГО КОМПОЗИТОВ

для разработки целого ряда фармацевтических форм для пролонгированного высвобождения различных лекарственных веществ: противовоспалительных [15], антитромбогенных [15-17], антибактериальных [18], противоопухолевых [19-21] и других групп [1, 2].

Для использования в тканевой инженерии применяют различные объёмные конструкции из полимерных материалов, изготавливаемые такими методами как выщелачивание, порообразование с использованием газов, методы с фазовым разделением, агрегацией частиц и другими [22, 23]. Одним из наиболее перспективных методов изготовления таких матриц является электроформование нанокпозиционных волокнистых материалов на основе полимера, или электроспиннинг, так как он позволяет получать структуры с большим соотношением площади поверхности к объёму, что играет немаловажное значение для прикрепления и роста клеток и других параметров биосовместимости матриц как *in vitro*, так и *in vivo* [24].

На величину диаметра получаемых электроформованием волокон влияют различные параметры, такие как концентрация вещества в исходном растворе, скорость испарения растворителя, напряжение, расстояние от капилляра до формирующегося слоя, температура и др. [25]. Поэтому получение на выходе волокон определенной морфологии является одной из основных проблем, актуальной и на сегодняшний день.

Для приготовления матриц на основе ПОБ в своей работе мы использовали несколько вариаций состава полимерной композиции.

Нашей основной задачей было найти такую рецептуру, при которой полученный матрикс обладал бы необходимыми физико-химическими свойствами и хорошей биосовместимостью. Таким образом, он должен быть достаточной прочным и служить хорошей подложкой для роста клеточной культуры. Оценка биосовместимости полученных матриц осуществлялась путём выращивания на них культуры мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и последующем анализе роста и размножения этой культуры с помощью биохимического теста на цитотоксичность.

МЕТОДИКА

Материалы

Исходный полигидроксибутират (порошок ПГБ) с молекулярной массой 300 и 460 кДа получен компанией "BIOMER" (Германия)

методом микробиологического синтеза. Использованы реактивы хлороформ (ХФМ), муравьиная кислота (МК) и тетрабутиламмоний йодид (ТБАИ), диоксид титана обоих модификаций получен на кафедре физики и химии твёрдого тела МИТХТ [26].

Состав полимерных композиций

Вариации состава полимерных композиций для изготовления матриц на основе ПОБ представлены в таблице 1.

Таблица 1. Состав используемых растворов для получения матриц.

Условное обозначение состава	Рецептура
ПОБ7-460-0	7% ПОБ (460 кДа) в ХФМ
ПОБ5-460-0	5% ПОБ (460 кДа) в ХФМ
ПОБ7-300-0	7% ПОБ (300 кДа) в ХФМ
ПОБ7-460-1	7% ПОБ (460 кДа) + 1 г/л ТБАИ + η -TiO ₂ в ХФМ/МК
ПОБ7-460-2	7% ПОБ (460 кДа) + 1 г/л ТБАИ + TiO ₂ (анатаз) в ХФМ/МК

Примечание. ПОБ - поли-3-гидроксибутират, ХФМ - хлороформ, МК - муравьиная кислота, ТБАИ - тетрабутиламмоний йодид, TiO₂ - наноразмерный диоксид титана со структурой анатаз, η -TiO₂ - η -модификация наноразмерного диоксида титана.

Тетрабутиламмоний йодид ($[(CH_3(CH_2)_3)_4N]$) применяется в процессе электроформования в качестве добавки для увеличения электропроводности формовочного раствора, и, таким образом, для избавления от морфологических дефектов волокон, так называемых "груш", муравьиная кислота добавлялась для регулирования вязкости, вариации оксида титана - для повышения эксплуатационных характеристик.

Получение нетканых волокнистых матриц

Электроформование нанокпозиционных волокнистых матриц на основе ПОБ осуществлено на опытной лабораторной установке. Электроформование осуществлялось при динамической вязкости раствора 2-9 Пз, удельной объёмной электропроводности $\sim 10^{-3}$ (Ом·м)⁻¹, объёмном расходе формовочного раствора $10 \div 12 \times 10^{-5}$ г/с, напряжении электрического поля 15 кВ, расстоянии между электродами 18 см.

Для стандартного контроля была использована плёнка из ПОБ 460 кДа, полученная методом формования из раствора в хлороформе на стеклянной поверхности [6-12].

Исследование морфологии и физико-химических свойств матриц

Распределение волокон из раствора ПГБ в ХФМ/МК (0.9:0.1) с ТБАИ по диаметрам исследовано методами световой и электронной микроскопии (оптический микроскоп МБИ-6; сканирующий электронный микроскоп Hitachi TM-1000). Теплофизические характеристики волокон на основе ПГБ (температура плавления и кристаллизации, степень кристалличности, температуры начала термо- и термоокислительной деструкции) получены с помощью дифференциально сканирующих калориметров ДСМ-2 и Perkin Elmer Pyris 6 DSC.

Прочность волокнистых материалов из ПГБ изучена на разрывной машине РМ-3-1 (по ТУ 25.061065-72). Разрывную длину рассчитывали по формуле:

$$L = F \times \frac{l_0}{m} \times 100,$$

где F – разрывное усилие, Н; l_0 – начальная длина образца между зажимами, м; m – масса образца между зажимами, г (ГОСТ 6611,2-73).

Среднее относительное удлинение рассчитывалось по формуле:

$$\varepsilon = \frac{l}{l_0} \times 100,$$

где l – длина образца между зажимами, м; l_0 – начальная длина образца между зажимами, м.

Плотность упаковки рассчитывали как:

$$\varphi = m_{\text{ед.пл.}} / \rho_{\text{п}} / b \times 100\%,$$

где $m_{\text{ед.пл.}}$ – масса единицы площади, г/м²; $\rho_{\text{п}}$ – плотность полимера, г/см³; b – толщина слоя нетканого материала, мкм.

Плотность упаковки волокнистых материалов измерена по изменению сопротивления потока воздуха на специальной манометрической установке [4]. Прочность волокнистых материалов из ПГБ изучена на разрывной машине РМ-3-1 по ТУ 25.061065-72.

Изучение роста клеток *in vitro* на подложках на основе ПГБ

Для оценки биосовместимости полимерных матриц использовали метод культивирования клеток на поверхности матриц. Для оценки биосовместимости матриц были использованы мезенхимальные стволовые клетки (МСК) из жировой ткани человека (“Биолот”, Россия),

как наиболее часто применяемая в тканевой инженерии [27, 28]. Клетки культивировали в среде DMEM (Dubecco's Modified Eagle Medium, “Invitrogen”, США) с повышенным содержанием глюкозы (4,5 г/л), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), 100 МЕ/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (“Invitrogen”). Клетки инкубировали при 37°C в атмосфере, содержащей 5% CO₂, среда менялась каждые три дня. Фибробласты снимали с подложки раствором трипсина-версена (0,05% трипсин и 0,02% р-р Версена в фосфатно-солевом буфере (ФСБ)) (“Serva”, Германия) и подсчитывали с помощью камеры Горяева. Образцы каждого матрикса (в шести повторах) размером 5×5 мм помещали в лунки 96-луночного планшета и клеточную суспензию наносили сверху на каждый образец из расчёта 5000 клеток на матрикс. Планшеты инкубировали 1, 3, 4, 8 суток. Выживаемость и пролиферацию клеток контролировали с помощью теста, основанного на реакции преобразования нерастворимой соли тетразолия в растворимую окрашенную соль формаза, осуществляемой активными митохондриальными ферментами клеток (ХТТ Cell Proliferation Kit, “Biological Industries”, Израиль). Через определённые промежутки времени (1, 3, 4, 8 суток, соответственно) матриксы быстро и аккуратно переносили в лунки с 100 мкл свежей среды. Затем добавляли по 50 мкл смеси ХТТ в каждую лунку и инкубировали при 37°C в течение 4 ч. В качестве контроля для сравнения роста клеток использовали плёнки ПОБ с М.м.=460 кДа. Подложки на основе ПГБ затем извлекали из лунок и проводили измерения на планшетном спектрофотометре Zenyth 3100 Microplate Multimode Detector (“Anthos Labtec Instruments GmbH”, Австрия) при длине волны 450 нм против 620 нм. В качестве отрицательного контроля использовали пробы с культуральной средой, в которой инкубировали матриксы в отсутствие клеток. Количество живых клеток определяли по стандартной калибровочной прямой для теста ХТТ. Эти данные представлены как характеристика биосовместимости *in vitro* полимерных плёнок [6-8].

Статистическую обработку данных производили с использованием пакета программ SPSS/PC+ Statistics™ 12.1 (SPSS). После подтверждения нормального распределения полученных данных непараметрический тест Крускала-Уоллиса был использован для оценки достоверности отличий данных по росту клеток на исследуемых образцах полимерных матриц от роста клеток на контрольном образце плёнки ПГБ. На диаграммах данные

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ МАТРИКСОВ ИЗ ПОБ И ЕГО КОМПОЗИТОВ

представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение при уровне достоверности $p < 0,05$ ($n = 6$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Получение волокон разной морфологии

При изготовлении матриксов методом электроформования мы использовали ПГБ различной концентрации (5% и 7%), различной молекулярной массы (300 кДа и 460 кДа) и с применением различных добавок – ТБАИ и диоксида титана для улучшения физико-химических свойств.

От рецептуры раствора зависит диаметр получаемых волокон, что хорошо видно

на фотографиях, полученных с помощью СЭМ (рис. 1). Из рисунка 2 видно, что наибольший диаметр волокон (2,8-3,4 мкм) был получен из 7% ПГБ 460 кДа, а наименьший (0,8-1,2 мкм) – из 7% ПГБ (460 кДа) с добавлением ТБАИ и диоксида титана. Из 5% ПГБ (460кДа) получились волокна диаметром 2,4-2,8 мкм, а из 7% ПГБ (300 кДа) – волокна от 1,8 мкм до 3,3 мкм, то есть разброс данных был максимальным.

Минимальные значения параметров физико-механических свойств и плотности упаковки были получены на матриксах из 7% ПГБ 300 кДа: $l=0,4$; $\varepsilon=7\%$; $\varphi=8\%$, а максимальные из 7% ПГБ 460 кДа с добавками: $l=1,4$; $\varepsilon=60\%$; $\varphi=12,9\%$ (табл. 2).

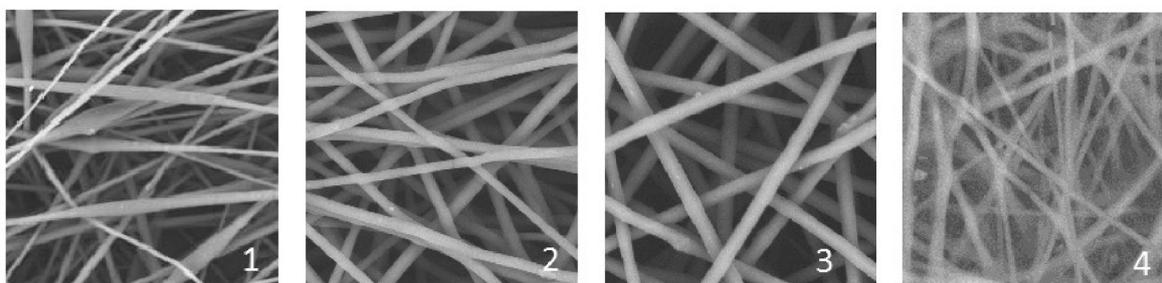


Рисунок 1. Фотографии, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии матриксов различного состава: 1 - 7% ПГБ (300 кДа), 2 - 7% ПГБ (460 кДа), 3 - 5% ПГБ (460 кДа), 4 - 7% ПГБ (460 кДа) + 1 г/л ТБАИ + TiO_2 .

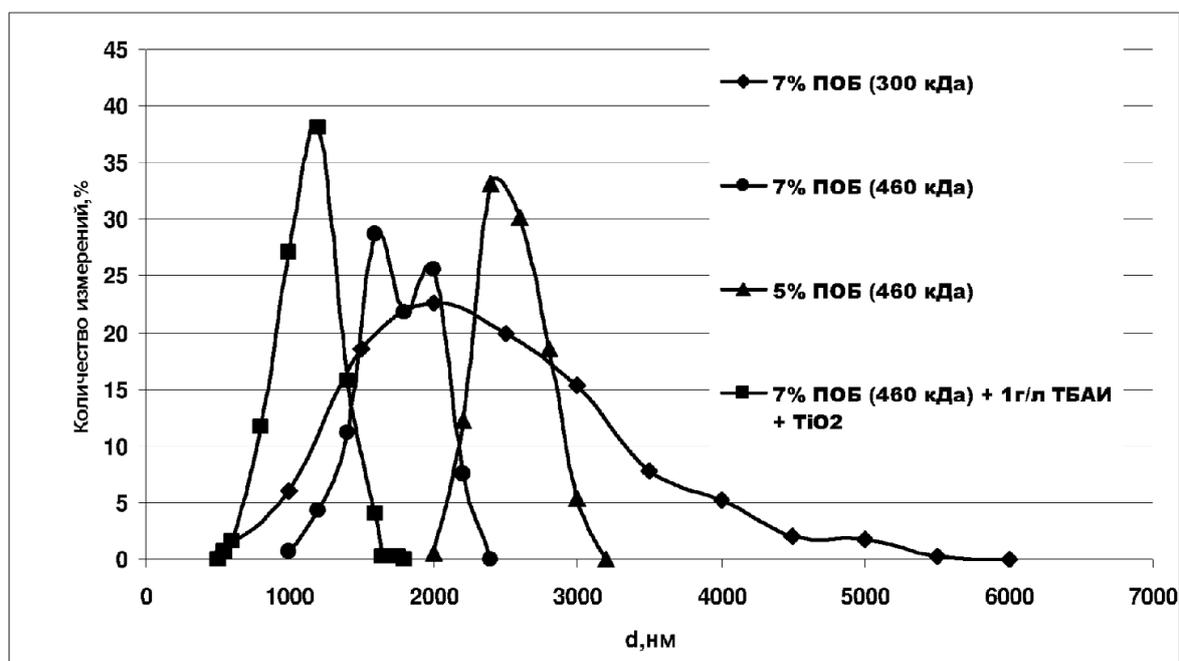


Рисунок 2. Распределения по диаметрам волокон, полученных методом электроспиннинга из ПОБ с использованием различных добавок.

Таблица 2. Влияние рецептуры на физико-механические свойства и плотность упаковки волокнистого материала.

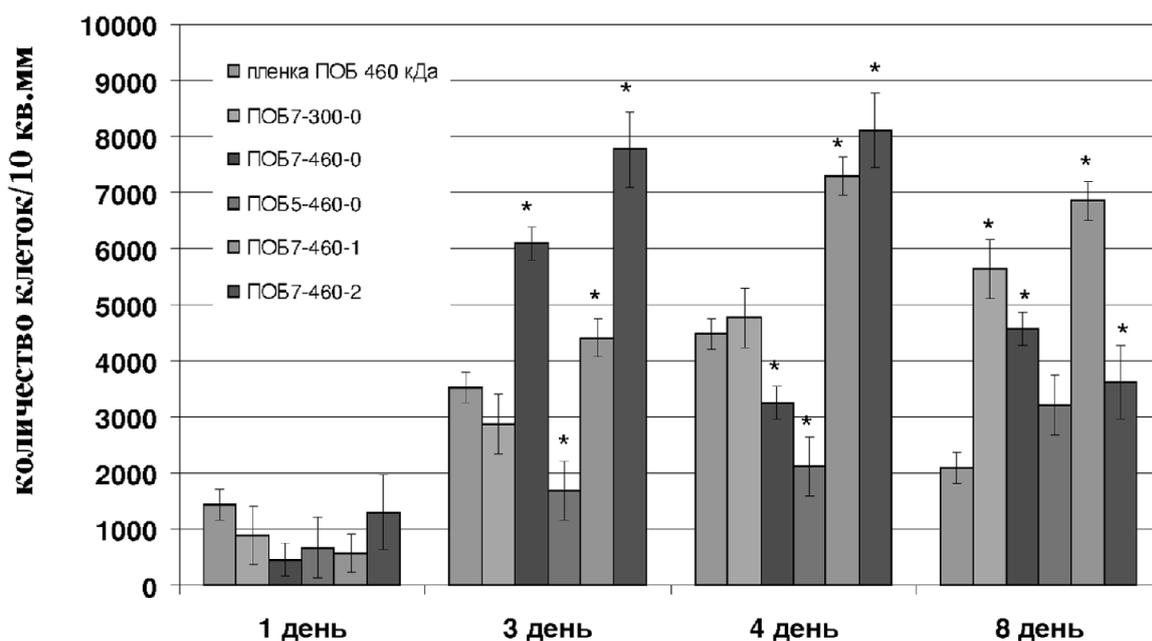
Рецептура (условное обозначение)	Средний диаметр нитей, мкм	Разрывная длина, л, м	Относительное удлинение при разрыве волокнистых материалов, ϵ , %	Плотность упаковки, β , %
ПОБ7-460-0	1,75	0,6	19	9,8
ПОБ5-460-0	2,54	0,2	17	9,4
ПОБ7-300-0	2,43	0,4	7	8,0
ПОБ7-460-1	1,14	1,4	50	12,9
ПОБ7-460-2	1,09	1,2	60	12,1

Рост клеток на поверхности матриц *in vitro*

Как можно видеть по результатам исследования роста МСК на поверхности полимерных матриц с помощью теста ХТТ (рис. 3), рост клеток на 8 сутки заметно падает; это связано с особенностью используемого теста, для которого рекомендуемый срок культивирования составляет 24-96 ч, но поскольку до 4 суток число клеток значительно увеличивается, то необходимо проводить сравнительную оценку роста клеток на биополимерных матрицах.

Можно с уверенностью сказать, что матрицы с рецептурой 5% ПГБ (460 кДа) и 7% ПГБ (300 кДа) обладают минимальной биосовместимостью, так как наибольшая концентрация клеток при культивировании на данных подложках наблюдается на 8 день, когда для всех остальных она максимальна

на 4 день. Таким образом, использование полимера низкой молекулярной массы и низкой концентрации для получения матриц с помощью электроформования для тканевой инженерии нецелесообразно. Наибольшую биосовместимость, которая была оценена по интенсивности роста клеток, продемонстрировали матрицы, приготовленные с добавлением тетрабутиламмоний йодида и оксида титана. Интересно, что именно эти матрицы обладают наименьшим диаметром нитей и, соответственно, их физико-химические свойства значительно отличаются от других, в частности, эти матрицы гораздо более пластичны. Более того, наличие таких добавок в этих матрицах, как тетрабутиламмоний йодид и оксид титана не повлияло на рост клеток. Поэтому можно предположить, что наибольшее влияние на рост клеток МСК на матрицах, полученных методом электроформования,

Рисунок 3. Рост клеточной культуры МСК на матрицах различной рецептуры, полученных методом электроформования. * - достоверность отличий по сравнению с плёнкой ПГБ ($p < 0,05$).

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ МАТРИКСОВ ИЗ ПОБ И ЕГО КОМПОЗИТОВ

оказывает их морфология, в частности, диаметр нитей, из которых состоит матрикс. Так, известно, что клетки МСК растут наилучшим образом на полимерных пленках со средними показателями шероховатости [29]. Учитывая большую плотность упаковки матриксов, приготовленных с добавлением тетрабутиламмоний йодида и оксида титана, можно предположить, что клетки МСК прикрепляются не к отдельным нитям матрикса, а растут на сети из нескольких или многих нитей, и воспринимают эту сеть из тонких нитей как монолитную шероховатую поверхность, тогда как толстые нити и меньшая

плотность упаковки матриксов, приготовленных без этих добавок, вынуждают клетки прикрепляться к одиночным нитям или в местах пересечения или близкого расположения нитей, что значительно препятствует их росту. Эти данные подтверждаются полученными нами ранее данными по влиянию шероховатости поверхности полимерных пленок на рост клеток на них [6]. Более наглядно зависимость роста клеток от диаметра нитей и плотности упаковки нитей матриксов представлена на графиках на рисунке 4. Видно, что с относительно высокой точностью наблюдается прямая пропорциональность между

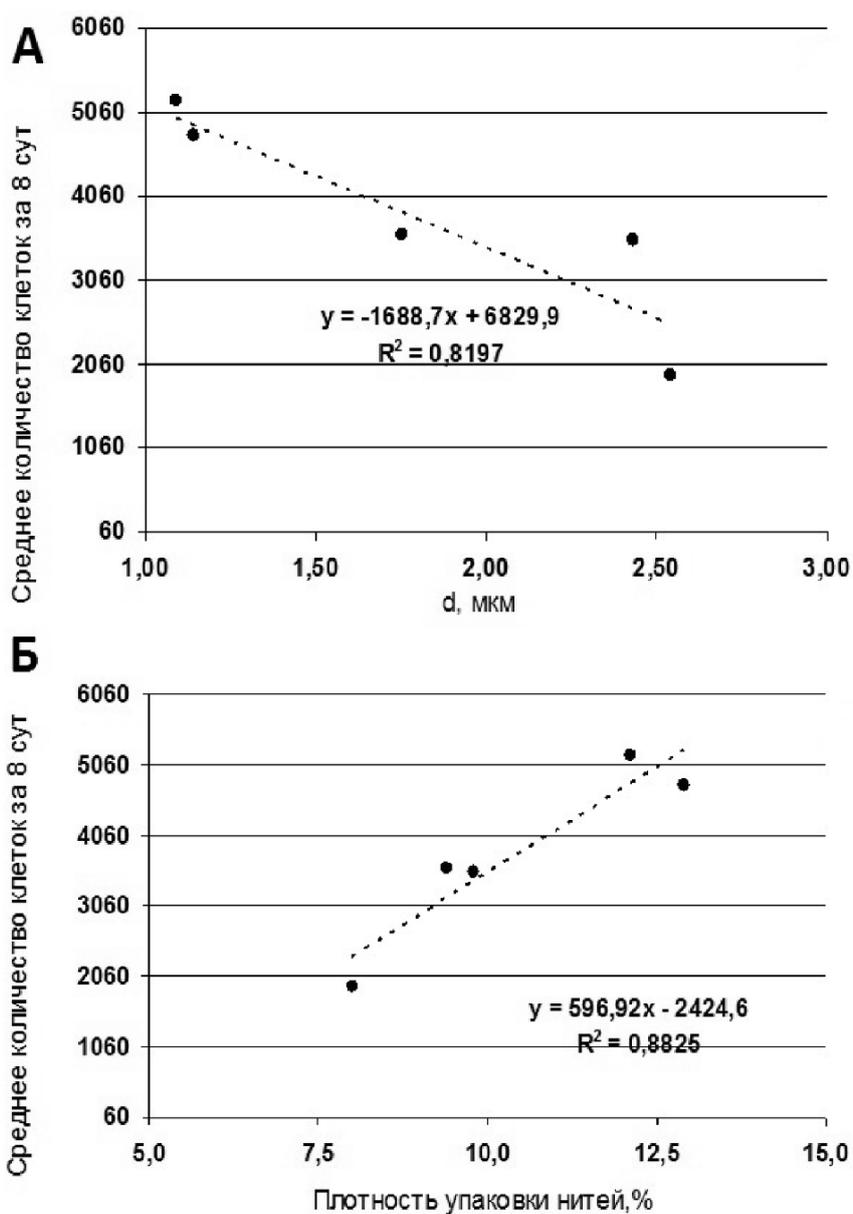


Рисунок 4. Зависимость усреднённого за 8 суток количества клеток от среднего диаметра нитей (А) и плотности упаковки нитей (Б) полученных матриксов. На графиках показана линейная аппроксимация данных и степень корреляции.

интенсивностью роста клеток на матриксах от плотности упаковки их нитей и обратная пропорциональность – от диаметра нитей. Поэтому структуры из нитей меньшего диаметра создают наиболее благоприятную основу для роста мезенхимальных стволовых клеток.

Таким образом, матриксы, полученные методом электроформования состава 7% ПОБ + 1 г/л ТБАИ + η -TiO₂ в ХФМ/МК могут быть рекомендованы для выращивания МСК с перспективой применения их в тканевой инженерии различных органов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонарцев А.П., Яковлев С.Г., Филатова Е.В., Соболева Г.М., Махина Т.К., Бонарцева Г.А., Шайтан К.В., Попов В.О., Кирпичников М.П. (2011) Биомед. химия, **57**, 232-240.
2. Bonartsev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Zaikov G.E. (2008) J. Balkan Tribological Assoc., **14**(3), 359-395.
3. Bonartseva G.A., Myshkina V.L., Nikolaeva D.A., Kevbrina M.V., Kallistova A.Y., Gerasin V.A., Iordanskii A.L., Nozhevnikova A.N. (2003) Appl. Biochem. Biotechnol., **109**, 285-301.
4. Myshkina V.L., Nikolaeva D.A., Makhina T.K., Bonartsev A.P., Bonartseva G.A. (2008) Appl. Biochem. Microbiol., **44**, 482-486.
5. Myshkina V.L., Ivanov E.A., Nikolaeva D.A., Makhina T.K., Bonartsev A.P., Filatova E.V., Ruzhitskii A.O., Bonartseva G.A. (2010) Appl. Biochem. Microbiol., **46**, 289-296.
6. Жаркова И.И., Бонарцев А.П., Босхомджиев А.П., Ефремов Ю.М., Багров Д.В., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Иванов Е.А., Воинова В.В., Яковлев С.Г., Зернов А.Л., Филатова Е.В., Андреева Н.В., Бонарцева Г.А., Шайтан К.В. (2012) Биомед. химия, **58**, 579-591.
7. Bonartsev A.P., Yakovlev S.G., Boskhomdzhiev A.P., Zharkova I.I., Bagrov D.V., Myshkina V.L., Mahina T.K., Charitonova E.P., Samsonova O.V., Zernov A.L., Zhuikov V.A., Efremov Yu.M., Voinova V.V., Bonartseva G.A., Shaitan K.V. (2013) PLoS ONE, **8**(2), e57200.
8. Bonartsev A.P., Yakovlev S.G., Zharkova I.I., Boskhomdzhiev A.P., Bagrov D.V., Myshkina V.L., Makhina T.K., Kharitonova E.P., Samsonova O.V., Voinova V.V., Zernov A.L., Efremov Yu.M., Bonartseva G.A., Shaitan K.V. (2013) BMC Biochemistry, **14**, 12.
9. Boskhomdzhiev A.P., Bonartsev A.P., Ivanov E.A., Makhina T.K., Myshkina V.L., Bagrov D.V., Filatova E.V., Bonartseva G.A., Iordanskii A.L. (2010) Int. Polymer Science and Technology, **37**(11), 25-30.
10. Босхомджиев А.П., Бонарцев А.П., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Иванов Е.А., Багров Д.В., Филатова Е.В., Иорданский А.Л., Бонарцева Г.А. (2009) Биомед. химия, **55**, 625-635.
11. Bonartsev A.P., Boskhomdzhiev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Rebrov A.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.A., Filatova E.A., Ivanov E.A., Bagrov D.V., Zaikov G.E. (2012) Molecular Crystals and Liquid Crystals, **556**, 288-300.
12. Bonartsev A.P., Boskhomdzhiev A.P., Voinova V.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.A., Zharkova I.I., Zernov A.L., Filatova E.A., Bagrov D.V., Rebrov A.V., Bonartseva G.A., Iordanskii A.L. (2012) Chemistry and Chemical Technology, **6**, 385-392.
13. Iordanskii A.L., Ol'khov A.A., Pankova Yu.N., Bonartsev A.P., Bonartseva G.A., Popov V.O. (2006) Fillers, Filled Polymers and Polymer Blends, Wiley-VCH, **233**, 108-116.
14. Bagrov D.V., Bonartsev A.P., Zhuikov V.A., Myshkina V.L., Makhina T.K., Zharkova I.I., Yakovlev S.G., Voinova V.V., Boskhomdzhiev A.P., Bonartseva G.A., Shaitan K.V. (2012) Amorphous and semicrystalline phases in ultrathin films of poly(3-hydroxybutyrate). Technical Proceedings of the 2012 NSTI Nanotechnology Conference and Expo, NSTI-Nanotech. pp. 602-605.
15. Bonartsev A.P., Bonartseva G.A., Makhina T.K., Mashkina V.L., Luchinina E.S., Livshits V.A., Boskhomdzhiev A.P., Markin V.S., Iordanskii A.L. (2006) Prikladn. Biokhimiya Mikrobiologiya, **42**, 625-630.
16. Bonartsev A.P., Livshits V.A., Makhina T.A., Myshkina V.L., Bonartseva G.A., Iordanskii A.L. (2007) Express Polymer Letts., **1**, 797-803.
17. Livshits V.A., Bonartsev A.P., Iordanskii A.L., Ivanov E.A., Makhina T.A., Myshkina V.L., Bonartseva G.A. (2009) Polymer Science Series B, **51**(7-8), 256-263.
18. Kosenko R. Yu., Iordanskii A.L., Markin V.S., Arthanarivaran G., Bonartsev A.P., Bonartseva G.A. (2007) Pharmaceut. Chem. J., **41**, 652-655.
19. Bonartsev A.P., Yakovlev S.G., Filatova E.V., Soboлева Г.М., Махина Т.К., Бонарцева Г.А., Шайтан К.В., Попов В.О., Кирпичников М.П. (2012) Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry, **6**, 42-47.
20. Filatova E.V., Yakovlev S.G., Bonartsev A.P., Mahina T.K., Myshkina V.L., Bonartseva G.A. (2012) Appl. Biochem. Microbiol., **48**, 598-602.
21. Yakovlev S.G., Bonartsev A.P., Boskhomdzhiev A.P., Bagrov D.V., Efremov Yu.M., Filatova E.V., Ivanov P.V., Mahina T.K., Bonartseva G.A. (2012) In vitro cytotoxic activity of poly(3-hydroxybutyrate) nanoparticles loaded with antitumor drug paclitaxel. Technical Proceedings of the 2012 NSTI Nanotechnology Conference and Expo, NSTI-Nanotech. pp. 190-193.
22. Севостьянов В.И., Кирпичников М.М. (ред.) (2011) Биосовместимые материалы: Учебное пособие, Москва.
23. Дженкинс М. (ред.) (2010) Полимеры в биологии и медицине (пер. с англ.), Научный мир, Москва
24. Филатов Ю.Н. (1997) Электроформование волокнистых материалов (ЭФВ-процесс). Нефть и Газ, М.
25. Kriegel C., Arecchi A., Kit K., McClements D.J., Weiss J. (2008) Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **48**(8), 775-797.

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ МАТРИКСОВ ИЗ ПОБ И ЕГО КОМПОЗИТОВ

26. Кузьмичева Г.М., Савинкина Е.В., Оболенская Л.Н., Белогорохова Л.И., Маврин Б.Н., Чернобровкин М.Г., Белогорохов А.И. (2010) Кристаллография, **55**, 913-918.
27. Wang S., Qu X., Zhao R. C. (2011) Front. Med., **5**, 372-378.
28. Kode J.A., Mukherjee S., Joglekar M.V., Hardikar A.A. (2009) Cytotherapy, **11**, 377-391.
29. Tang X.J., Wu Q.Y. (2006) J. Mater. Sci: Mater. Med., **17**, 627-632.

Поступила: 14. 05. 2013.

BIOCOMPATIBILITY OF ELECTROSPUN POLY(3-HYDROXYBUTYRATE) AND ITS COMPOSITES SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING

I.I. Zharkova¹, O.V. Staroverova², V.V. Voinova¹, N.V. Andreeva¹, A.M. Shushkevich³, E.D. Sklyanchuk³, G.M. Kuzmicheva², A.E. Bepalova¹, E.A. Akulina¹, K.V. Shaitan¹, A.A. Olkhov²

¹Lomonosov Moscow State University,
Leninskie gory, 1-12, Moscow, 119992 Russia; tel.: (495) 930-63-06; e-mail: ant_bonar@mail.ru

²Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, Russia

³Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

Development of biodegradable polymers-based scaffolds for tissue engineering is a promising trend in bioengineering. The electrospun scaffolds from poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) were produced using different additives that changed the physical and chemical characteristics of the products. As a result, the construct consisting of interwoven threads of different diameter (0.8-3.4 μm) were obtained, the smallest diameter was observed in the threads from the PHB using tetrabutylammonium iodide (TBAI) and titanium oxide II (TiO_2) as additives. Mesenchymal stem cells (MSC) were cultivated on the scaffolds for the biocompatibility evaluation of obtained materials. Cells viability was determined by the XTT assay test. It was shown that the scaffold from the interwoven threads of lowest diameter is most favorable for MSC growth in comparison with the polymer film and scaffolds from the threads of larger diameter. Thus, it was shown that the biocompatibility of electrospun PHB scaffolds depended on their microstructure. The obtained data can be used for development of scaffolds for tissue engineering.

Key words: poly(3-hydroxybutyrate), electrospinning, biocompatibility, MSC.