

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ ДИФФУЗИОННЫХ КАМЕР В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ИМПЛАНТАЦИИ НА СОСУДИСТО-НЕРВНОМ ПУЧКЕ

Е. А. Марзоль , М. В. Дворниченко, Н. С. Митряйкин, Н. А. Апаршев

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Поликапролактон как материал при создании нанокomпозитных структур достаточно изучен с позиции терапевтического эффекта и безопасности применения. Однако его биосовместимость в виде объемных макрокамер-носителей остается предметом дискуссии ввиду изменения способа 3D-печати. Целью работы было определить биосовместимость диффузионной камеры из поликапролактона при ее имплантации на бедренный сосудисто-нервный пучок крысы. Исследование проводили на половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Животным группы 1 (экспериментальная, $n = 4$) проводили имплантацию диффузионной камеры из поликапролактона на бедренный сосудисто-нервный пучок. В группу 2 (контрольная, $n = 3$) вошли интактные крысы. В ходе макроскопической оценки не было выявлено патологических изменений на месте имплантации и в органах-мишенях. При микроскопии тканей не выявлено системной реакции, количество двуядерных гепатоцитов составило 1,05%. Показатели стромально-паренхиматозного отношения составили: печень — 1/33,20, надпочечники — 1/19,53, почки — 1/23,65, селезенка — 1/26,52. На 40-е сутки картина крови включала в себя повышение числа лимфоцитов на 4%, уменьшение сегментоядерных нейтрофилов на 17% и моноцитов на те же 17%. Эти результаты подтверждают безопасность использования диффузионной камеры из поликапролактона и ее биосовместимость при постановке на крупные сосудисто-нервные пучки, однако влияние продуктов биодegradации поликапролактона требует более широкого исследования при более длительных сроках биоинтеграции.

Ключевые слова: диффузионная камера, поликапролактон, биосовместимость, клеточные технологии, системная реакция, микрофлюидные технологии

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №23-25-00346.

Вклад авторов: Е. А. Марзоль, М. В. Дворниченко — разработка концепции и дизайна; Е. А. Марзоль, Н. А. Апаршев, Н. С. Митряйкин — анализ и интерпретация данных; Е. А. Марзоль, Н. С. Митряйкин, М. В. Дворниченко — обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания; М. В. Дворниченко — утверждение рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (протокол № ЦДИ-005 от 5 февраля 2022 г.). Все манипуляции с животными проводили в соответствии с директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей», с соблюдением правил и норм Европейского общества (86/609/EEC), Хельсинкской декларации и приказов Министерства здравоохранения СССР (№ 742 от 13.11.1984 и № 48 от 23.01.1985).

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Александровна Марзоль
ул. Карташова, 29б, кв. 78, г. Томск, 634 041; Katya4803@mail.ru

Статья получена: 27.06.2024 **Статья принята к печати:** 21.07.2024 **Опубликована онлайн:** 19.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.032

ESTIMATION OF DIFFUSION CHAMBER BIOCOMPATIBILITY IN THE EXPERIMENTAL MODEL OF IMPLANTATION IN THE NEUROVASCULAR BUNDLE

Marzol EA , Dvornichenko MV, Mitryaikin NS, Aparshev NA

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Polycaprolactone as a material used when constructing nanocomposite structures is sufficiently studied in terms of therapeutic effect and safety of use. However, its biocompatibility in the form of three-dimensional carrier macrochambers is still a matter of debate due to changes in the way the 3D printing is done. The study was aimed to determine biocompatibility of the diffusion chamber made of polycaprolactone after implantation in the rat femoral neurovascular bundle. The study involved mature male Wistar rats. Animals of group 1 (experimental, $n = 4$) underwent implantation of the polycaprolactone diffusion chamber in the femoral neurovascular bundle. Group 2 (control, $n = 3$) included intact rats. Macroscopic assessment revealed no abnormalities at the site of implantation and in the target organs. Tissue microscopy revealed no systemic response; the number of binucleated hepatocytes was 1.05%. The stromal–parenchymal relationship values were as follows: liver — 1/33.20, adrenal glands — 1/19.53, kidney — 1/23.65, spleen — 1/26.52. On day 40, hemogram showed the increase in lymphocyte counts by 4%, the decrease in segmented neutrophil counts by 17% and monocyte counts by 17%. These findings confirm safety of using the polycaprolactone diffusion chamber and its biocompatibility when installed in the large neurovascular bundle. However, the effects of polycaprolactone degradation products require more extensive study over the longer periods of biointegration.

Keywords: diffusion chambers, polycaprolactone, biocompatibility, cell technologies, systemic reaction, microfluidic technologies

Funding: the study was supported by the RSF (research project No. 23-25-00346).

Author contribution: Marzol EA, Dvornichenko MV — developing concept and design; Marzol EA, Aparshev NA, Mitryaikin NS — data analysis and interpretation; Marzol EA, Mitryaikin NS, Dvornichenko MV — substantiation of manuscript or verification of critical intellectual content; Dvornichenko MV — final approval of manuscript before publishing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Siberian State Medical University (protocol No. CDI-005 dated 5 February 2022). Animals were handled in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council on the protection of animals used for scientific purposes dated 22 September 2010, rules and regulations of the European Community (86/609/EEC), Declaration of Helsinki, and orders of the Ministry of Health of the USSR (No. 742 dated 13 November 1984 and No. 48 dated 23 January 1985).

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina A. Marzol
Kartashova, 29b, kv. 78, Tomsk, 634 041; Katya4803@mail.ru

Received: 27.06.2024 **Accepted:** 21.07.2024 **Published online:** 19.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.032

В современном тканевом моделировании используют материалы, обладающие наибольшей биосовместимостью при имплантации, к которым относятся поликапролактон, поливинилпирролидон, полигликолевая кислота и др. [1–2]. В этом ряду поликапролактон (PCL) — синтетический полимер из класса алифатических полиэфиров, синтезированный в начале 1930-х гг., является наиболее перспективным для биоинженерных конструкций [3]. Его особые физико-химические и механические свойства, вязкоупругость и простота формования привели к производству продуктов различной формы для биомедицинской сферы: от наложения швов до замены тканей и органов с помощью 3D-печати, в частности, изоляционных (диффузионных) камер для имплантации клеточного материала. В настоящее время нанокompозитные модификации и аддитивные технологии каркасных структур (скэффолдов) из поликапролактона для регенеративной медицины исследованы как с точки зрения терапевтической эффективности, так и с позиции безопасности применения [4]. Однако формирование из поликапролактона объемных, полых макрокамер-носителей клеточного материала (диффузионных камер), позволяющих в определенной степени изолировать ее содержимое от сред организма-реципиента и не теряющих при этом достаточных адгезивных свойств, требует модификации условий 3D-печати, что ведет к изменению плотности и архитектуры волокон материала, а, следовательно, изменяет его физико-химические свойства и степень биосовместимости [5–6]. Для PCL доказана низкая биорезорбция в противовес умеренной биодеградации, которые можно корректировать изменением объема формируемой структуры, поляризацией или дополнительным введением противовоспалительных цитокинов [7–8]. Параметры деградации PCL зависят от молекулярной массы, формы полимера и локализации имплантации, а именно от степени васкуляризации. В соответствии с этим возможна как полная элиминация продуктов до углекислого газа, капроновой кислоты и воды, так и распад до промежуточных кристаллов полимера, 6-гидроксикапроновой кислоты, аморфных коллоидов в составе эндосом макрофагов [9]. Исследования подобных конструкций большей частью проводят на уровне реакции инородного тела (FBR), учитывающей локальные изменения в тканях, морфологию иммунного ответа *in situ* и резорбтивный потенциал в течение малого промежутка времени, что отчасти позволяет экспоненциально оценивать сроки возможной имплантации, период полувыведения и возможные последствия для организма-носителя [1, 10–11]. Однако такой подход не позволяет с уверенностью говорить о том, что морфофункциональные изменения, включающие в себя повышение осмотического давления по отношению к окружающим тканям, сдвиг pH в кислую сторону, вялотекущее продуктивное воспаление и волновой окислительный стресс, связанный с неравномерным и аутокаталитическим отщеплением низкомолекулярных фрагментов, ограничиваются лишь локальным уровнем [12–14].

В условиях постановки диффузионной камеры на сосудисто-нервный пучок (СНП) важным критерием биорезорбции является прямой перенос кристаллов PCL и продуктов его распада макрофагами непосредственно в сосудистое русло [15–16], что в сочетании с физико-химическими свойствами материала может изменять как качественные характеристики сосуда, так и клеточный состав капсулы, вероятно, приводящие к более острому

окислительному стрессу для организма-реципиента на локальном (в области постановки конструкции) [17] и системном уровнях [18].

Таким образом, существует необходимость в исследовании влияния продуктов биодеградации поликапролактона и общего значения имплантации на локальном и системном морфофункциональных уровнях, что может быть достигнуто в условиях применения диффузионной камеры *in vivo* на бедренном СНП крысы [19].

Цель работы — определить биосовместимость диффузионной камеры из поликапролактона при ее имплантации на бедренный сосудисто-нервный пучок крысы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диффузионная камера (ДК) была спроектирована при помощи программного обеспечения с открытым исходным кодом Blender и выполнена методом послойного наплавления нитей (FFF) из поликапролактона (Natural works Ingeo 40-43d NatureWorks LLC), полученных электроспиннингом, при помощи 3D-принтера CreatBot Duo (CreatBot 3D Printer; КНР). Камера состоит из двух частей, соединяющихся между собой защелками в полую капсулу с выемками в торцевых стенках (рис. 1), что позволяет фиксировать ее на СНП. Материал камеры представляет собой биоразлагаемый полиэфир (PCL 100%), разрешенный к медицинскому применению, с низкой температурой плавления (59–64 °С).

Стерилизацию ДК проводили в парах 100%-го этиленоксида при 37 °С в течение 9 ч в газовом стерилизаторе 3M Steri-Vac Sterilizer/Aerator (3M; США), согласно рекомендациям ГОСТ ISO 11135-2017.

В качестве экспериментальной модели использовали крыс линии Wistar массой 280–300 г, которых содержали в стандартных условиях вивария без проведения антибиотикотерапии на базе лаборатории биологических моделей Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). Для эксперимента животные были разделены на две группы: в экспериментальную группу 1 ($n = 4$) вошли животные с имплантированными ДК на бедренный СНП; в контрольную группу 2 ($n = 3$) — интактные крысы. Имплантацию ДК экспериментальным

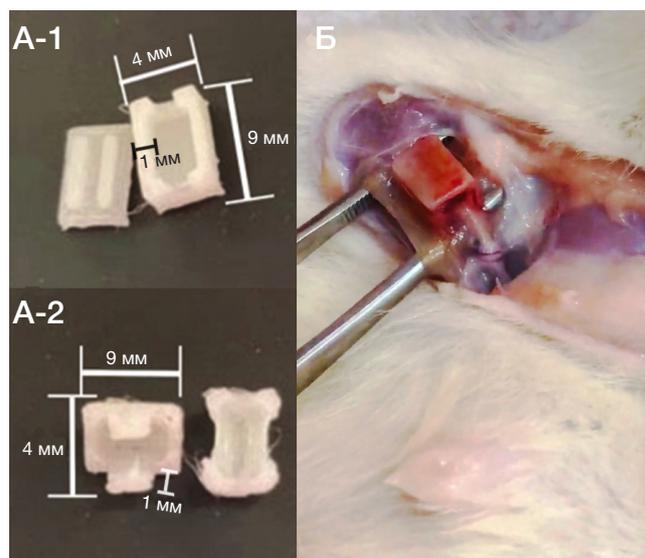


Рис. 1. А-1, А-2. Параметры экспериментальной модели ДК из PCL (длина — 9 мм, ширина — 4 мм, толщина — 1 мм). Б. Операционное поле области имплантации ДК (PCL)

Таблица 1. Макроскопические параметры биосовместимости диффузионных камер из поликапролактона при их имплантации на бедренный сосудисто-нервный пучок крысам линии Wistar

Группы исследования	Воспаление	Гиперемия места имплантации	Инкапсуляция камеры
Экспериментальная группа	0	1	1,5
$n = 4$	(0–0)	(1–1,5)	(1–1,5)
Контрольная группа	0	0	-
$n = 3$	(0–0)	(0–1)	

животным производили под изофлураном. За 15 мин до операции внутримышечно вводили атропин в дозировке 0,2 мг/кг для предотвращения интраоперационных осложнений. Оперативный доступ выполняли из разреза в 2–3 см в глубине паховой складки, в направлении внутрь от пульсации бедренной артерии (рис. 1).

Через 40 дней по окончании эксперимента животные были подвергнуты эвтаназии методом CO_2 -ингаляции. Макроскопическую (визуальную) оценку места имплантации проводили на 3, 7, 12 сутки, а также через 40 суток после начала эксперимента при некропии и оценивали по степени кровенаполнения сосудов, инкапсуляции и визуальных признаков воспалительной реакции (наличие гиперемии, отека, инфильтрата) в балловой системе, где 0 баллов означает отсутствие признака, 1 балл — слабая степень, 2 балла — умеренная степень.

В рамках исследования реактивной реакции организма реципиента проводили взятие мазка крови из хвостовой вены до имплантации и на 40-е сутки. Окрашивание мазков крови проводили по методике Романовского–Гимзы. Приготовление гистологических препаратов органов-мишеней — печени, селезенки, почки, надпочечников — после некропии осуществляли по стандартной методике с окрашиванием гематоксилином и эозином [20]. Микроскопию проводили на световом микроскопе Carl Zeiss Observer D1 (Carl Zeiss; Германия).

Морфометрия для оценки возможных реактивных изменений органов была проведена по изображениям, полученным цифровой камерой для световой микроскопии Zeiss AxioCam ICc5 (Carl Zeiss; Германия), и основывалась на стромально-паренхиматозном отношении: стромальные компоненты (сосуды, межлочечковая ткань, септальные участки, капсула)/паренхима, а также на определении процентного содержания двуядерных гепатоцитов на 100 клеток. Картину крови оценивали по лейкоцитарной формуле. Для расчета параметров оценивали 10 полей зрения в каждой группе. Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10.0, IBM (TIBCO Software; США). Проверку статистических гипотез на характер распределения признака проводили при помощи критерия Шапиро–Уилка для малых ($n < 30$) выборок. При обработке полученных результатов использовали методы описательной и непараметрической статистики. Исследуемые параметры описывали как медиану (Me), 25% (Q_1) и 75% (Q_3) квартили. При сравнении независимых выборок использовали критерий Манна–Уитни с медианным тестом, для парных сравнений использовали критерий Фридмана. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение периода экспериментального моделирования имплантации ДК на СНП поведение животных опытной группы, их внешнее состояние, волосяной покров не отличались от таковых у контрольной группы. Местных

постоперационных осложнений выявлено не было, подвижность оперируемой конечности была сохранена и не изменена.

Исследуемые параметры биосовместимости представлены в табл. 1.

Анатомо-топографическое состояние исследуемых внутренних органов животных (почек, надпочечников, селезенки, печени) экспериментальной группы не отличалось от контрольной группы.

При макроскопическом исследовании органов животных экспериментальной группы, по сравнению с органами животных контрольной группы, характерных новообразований и патологических изменений не было обнаружено (органы нормального цвета, с ровной поверхностью, интактны, не увеличены в размерах, отсутствуют признаки атрофии, фиброза, рубцевания, капсула сохранена, не утолщена).

Микроскопическое исследование печени крыс экспериментальной группы (рис. 2) показало: на малом увеличении определяется неутолщенная фиброзная капсула Глиссона, дольки правильной гексагональной формы, границы между дольками прослеживаются нечетко в связи с незрелостью соединительной ткани, структура триад сохранена. Патологических образований и изменений выявлено не было.

На большом увеличении дольки состоят из радиально расположенных печеночных балок, представляющих собой анастомозирующие тяжи гепатоцитов. Между балками располагаются синусоидные капилляры печени, выстланные эндотелиальными клетками. В непосредственной близости от дольки определяется портальный тракт, состоящий из междольковой артерии, вены (диаметр вены в 3–4 раза больше диаметра артерии), желчного протока, выстланного однослойным кубическим эпителием с крупными темными округлыми ядрами и окруженного соединительнотканной оболочкой, и

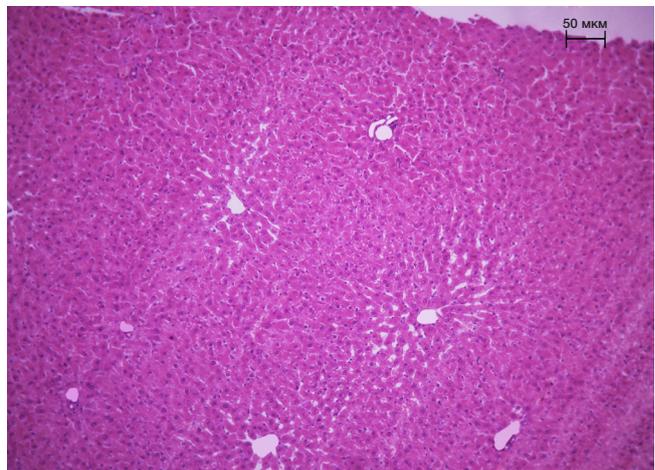


Рис. 2. Микроскопические срезы печени крыс линии Wistar экспериментальной группы (с имплантированными ДК из PCL). Гематоксилин–эозин; увеличение 10×

междолькового лимфатического сосуда. Гепатоциты чаще одноядерные, в них хорошо прослеживается базофильное ядро и гомогенная темно-красная цитоплазма. Относительное количество двуядерных гепатоцитов на 100 клеток в полях зрения составило 1,05% (1,02%; 1,11%), т. е. менее 10%.

Интерстициальная ткань определяется, не инфильтрирована, разрастания и признаков фиброза не обнаружено. Сосуды представлены центральными венами, расположенными в центре печеночных долек, поддольковыми венами со значительно большим просветом, собирательными венами, расположенными между дольками, портальным трактом (выявляются единичные лимфоциты, моноциты и гистиоциты), синусоидными капиллярами. Просвет одинаков в видимом поле, стенки не изменены, клеточной инфильтрации и признаков транссудации нет.

Микроскопическое исследование надпочечников крыс экспериментальной группы (рис. 3) показало: на малом увеличении определяется неутолщенная фиброзная капсула, определяется граница между корковым и мозговым веществом. Корковое вещество состоит из клубочковой, пучковой и сетчатой зоны. Мозговое вещество содержало более темные и крупные клетки. Патологических образований и изменений выявлено не было.

На большом увеличении клубочковая зона представлена небольшими мноморфными клетками с равномерно окрашенной оксифильной цитоплазмой и эксцентрично расположенным ядром, формирующими гроздевидные фигуры. Определяются единичные более крупные клетки с полиморфным ядром. Пучковая зона объемнее, корковое плато состоит из ветвящихся разнонаправленных синусоидов, между которыми расположены тяжи оксифильных вакуолизованных в большинстве случаев крупных клеток с гиперхромными ядрами. Граница между пучковой и сетчатой зонами определяется соединительнотканной прослойкой. Сетчатая зона представлена мелкими кровеносными сосудами, интенсивно окрашенными округлыми и угловатыми клетки с мелким гиперхромным ядром.

Мозговое вещество визуализируется сосудистой сетью, паренхиматозными крупными клетками, которые образуют плотные клеточные тяжи, ядро крупное и светлое, цитоплазма вакуолизованная, выявляется мелкоочечная гранулярность. Определяются широкие выносящие собирательные вены и синусоидные капилляры, которые окружены хромаффинными клетками с базофильной цитоплазмой.

Интерстициальная ткань определяется, не инфильтрирована, разрастания не обнаружено. Просвет сосудов одинаков в видимом поле, стенки не изменены, клеточной инфильтрации и признаков транссудации нет.

Микроскопическое исследование селезенки крыс экспериментальной группы (рис. 4) показало: на малом увеличении определяется неутолщенная фиброзная капсула, от которой отходят нечетко выраженные перекладины-трабекулы, анастомозирующие между собой. Граница между белой и красной пульпой сохранена. Белая пульпа занимает 1/5 часть органа, распределена диффузно, в большей степени подкапсулярно. Красная пульпа занимает оставшуюся часть органа (без капсулы и трабекул), состоит из селезеночных капилляров и селезеночных тяжей. Патологических образований и изменений выявлено не было.

На большом увеличении определяется состав оксифильной капсулы: мезотелий, плотная волокнистая

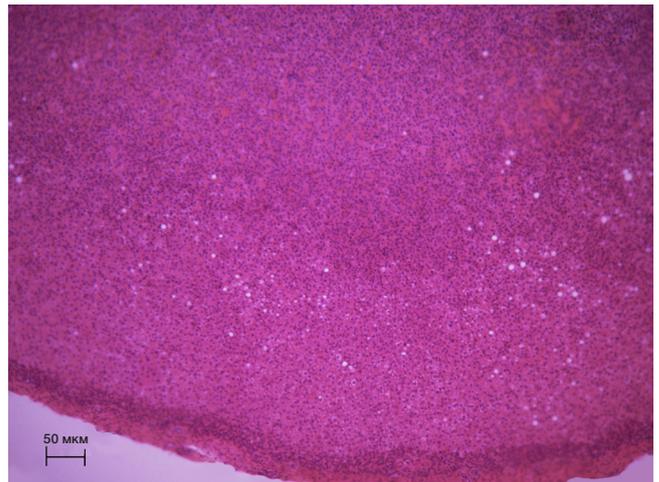


Рис. 3. Микроскопические срезы надпочечников крыс линии Wistar экспериментальной группы (с имплантированными ДК из PCL). Гематоксилин-эозин; увеличение 10х

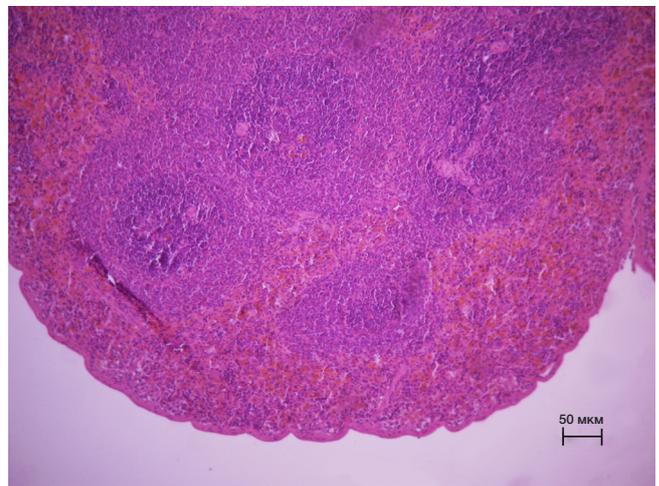


Рис. 4. Микроскопические срезы селезенки крыс линии Wistar экспериментальной группы (с имплантированными ДК из PCL). Гематоксилин-эозин; увеличение 10х

ткань и гладкие миоциты. Оксифильные трабекулы состоят из коллагеновых волокон и гладких миоцитов. Между трабекулами находится пульпа селезенки с основой из ретикулярной ткани. Белая пульпа селезенки представлена лимфоидной тканью из лимфатических узелков (скопления лимфоцитов) и лимфатических периартериальных влагалищ (состав: ретикулярные клетки, лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки), которые окружают артерии в области выхода из трабекулы. В короне лимфатических узелков определяются лимфоциты, макрофаги, ретикулярные клетки, а в герминативном центре — лимфоциты на разных стадиях пролиферации и дифференцировки, плазматические клетки, макрофаги. Вокруг периартериальной и реактивной областей располагается мантийная зона (скопление В-клеток памяти и проплазмоцитов). Маргинальная зона узелков окружена синусоидальными капиллярами. Основные компоненты красной пульпы — ретикулярная ткань с клетками крови (эритроцитами, зернистыми и незернистыми лейкоцитами) и синусоиды, анастомозирующие между собой.

Интерстициальная ткань определяется, не инфильтрирована, разрастания нет. Сосуды представлены трабекулярными венами, трабекулярными артериями, пульпарными артериями (вокруг которых скапливаются

Таблица 2. Данные лейкоцитарной крови до имплантации диффузионных камер из поликапролактона на бедренный сосудисто-нервный пучок крыс линии Wistar и на 40-е сутки после нее

	ЮН	ПЯН	СЯН	Эозинофилы	Базофилы	Моноциты	Лимфоциты
До имплантации ДК (PCL)	0%	3%	5%	0%	1%	9%	82%
	0	4%	11%	1%	0	6%	78%
	0	7%	5%	0	0	4%	84%
	0	5%	10%	0	0	8%	77%
	0	9%	14%	0	1%	8%	68%
	0	1%	14%	0	0	7%	78%
	0	3%	13%	0	1%	4%	79%
	0	1%	8%	1%	2%	6%	82%
	0	5%	18%	0	2%	6%	69%
	0	5%	12%	0	0	7%	76%
	0	5%	12%	1%	1%	6%	75%
На 40-е сутки	0	3%	5%	0	0	6%	86%
	0	1%	7%	0	2%	5%	85%
	0	8%	8%	0	0	4%	80%
	0	4%	10%	0	1%	3%	82%
	0	5%	9%	1%	1%	7%	77%
	0	4%	12%	0	0	6%	78%
	0	5%	13%	1%	0	5%	76%
	0	6%	9%	0	1%	3%	81%
	0	4%	12%	1%	0	6%	77%
	0	3%	11%	0	0	3%	83%
	0	2%	10%	0	1%	4%	83%

Т-лимфоциты), центральными артериями, находящимися эксцентрично на периферии фолликула, венозными синусами и капиллярами. Просвет одинаков в видимом поле, стенки не изменены, клеточной инфильтрации и признаков транссудации нет.

Микроскопическое исследование почек крыс экспериментальной группы также определило типичное строение органа: на малом увеличении определяется неутолщенная фиброзная капсула, сохранена граница между корковым и мозговым веществом. Корковое вещество включает в себя почечные тельца, аппарат извитых канальцев, радиально сводящихся к мозговому веществу, состоящих из прямых канальцев. Патологических образований и изменений выявлено не было.

На большом увеличении почечное тельце представлено клубочком капилляров, неутолщенной наружной капсулой, париетальный и висцеральный листки которой плотно прилегают друг к другу, пространство Боуменовой капсулы практически не выявляется. На гистологическом срезе определяются проксимальные извитые канальцы, однослойный кубический эпителий которых имеет оксифильную окраску, базофильные ядра. Просветы этих канальцев неширокие, свободные. Дистальные канальцы с широким просветом выстланы призматическим эпителием с опалесцирующей цитоплазмой, кайма не определяется, в окружении выявляется плотное пятно. Мозговое вещество представлено прямыми канальцами и собирательными трубочками. Прямые канальцы с узким просветом представлены однослойным кубическим каемчатым эпителием. Собирательные трубочки со свободными просветами состоят из однослойного кубического эпителия более бледной оксифильной окраски, ядра расположены ближе к просвету. Патологических образований и изменений выявлено не было.

Интерстициальная ткань определяется, не инфильтрирована, занимает межтубулярное положение от паренхимы, разрастания нет. Сосуды представлены подкапсулярными венами, приносящими артериями, междольковыми артериями и венами в корковом веществе и дуговыми артериями и венами в мозговом. Просвет одинаков в видимом поле, стенки не изменены, клеточной инфильтрации и признаков транссудации нет.

Дескриптивная оценка морфометрического критерия стромально-паренхиматозного соотношения в контрольной группе животных в сравнении с экспериментальной не показала статистически значимых изменений. Исследуемый показатель при изучении гистологического препарата надпочечников показал следующие значения: контроль — 1/21,21 (1/21,27; 1/23,13), эксперимент — 1/19,53 (1/17,85; 1/20,56); при подсчете на микроскопических срезах печени крыс величина рассматриваемого критерия в контрольной группе была равна 1/33,85 (1/31,69; 1/39,05), а в экспериментальной — 1/33,20 (1/33,14; 1/34,67); значение исследуемого соотношения гистопрепаратов селезенки в группе контроля соответствовало 1/24,36 (1/20,58; 1/25,61), а группе эксперимента — 1/26,52 (1/24,39; 1/28,86); в свою очередь, морфометрический показатель гистологических срезов почек характеризовался следующими данными: контроль — 1/21,87 (1/17,33; 1/28,50), эксперимент — 1/23,65 (1/21,78; 1/26,93).

Подсчет лейкоцитарной формулы выявил следующие характеристики: до имплантации лимфоциты составили 78,00 (75,50; 80,50); моноциты — 6,00 (6,00; 7,50); количество сегментоядерных нейтрофилов — 12,00 (9,00; 13,50), что превышало количество палочкоядерных форм — 5,00 (3,00; 5,00); эозинофилы — 0,00 (0,00; 0,50) и базофилы — 1,00 (0,00; 1,00) были представлены в сравнительно небольшом количестве.

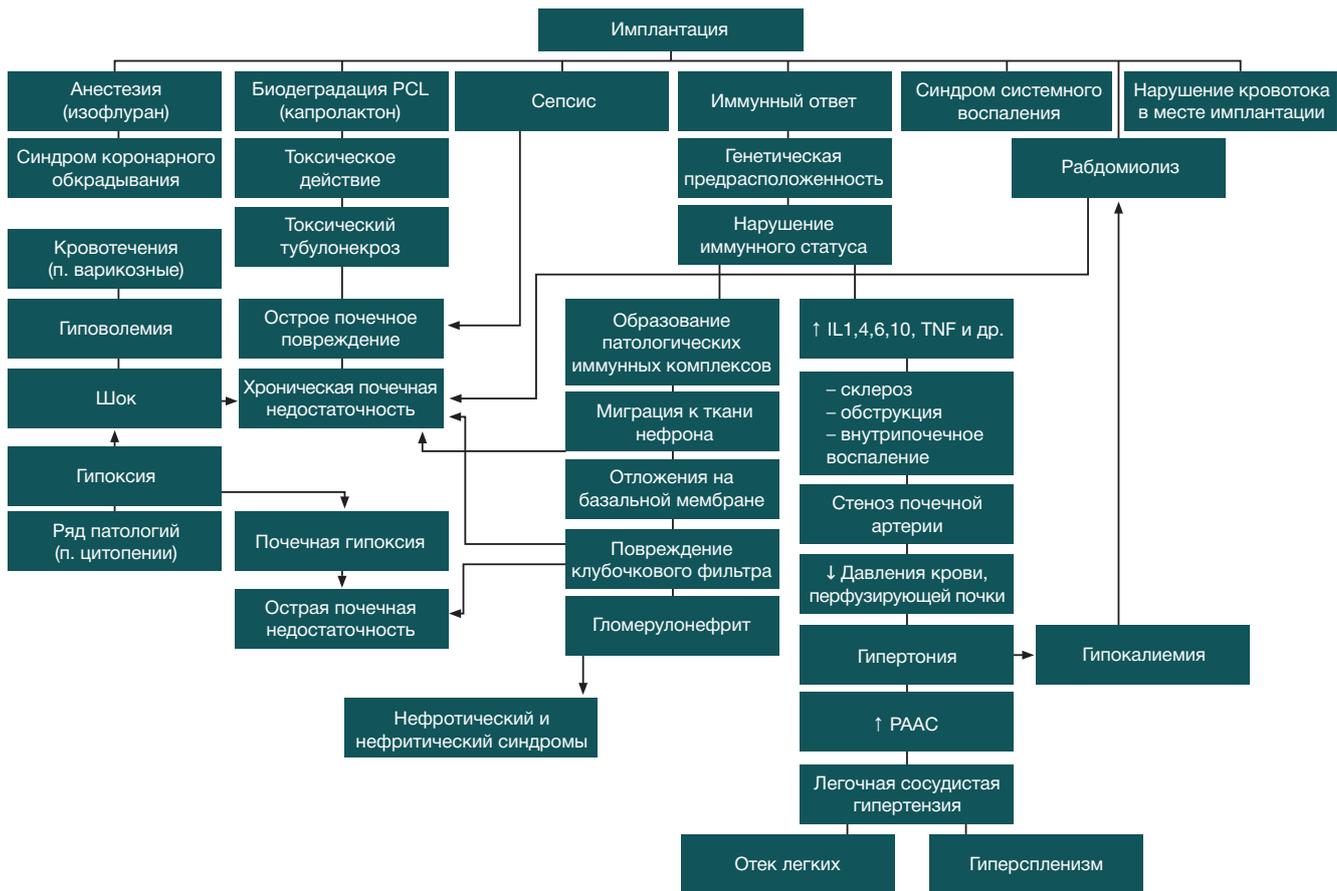


Рис. 6. Возможные патогенетические изменения почек при имплантации ДК из PCL крысам линии Wistar [21, 25]

как надпочечников, так и селезенки, а также при оценке дистрофических и атрофических изменений почечных канальцев и телец [28].

Увеличение количества двуядерных гепатоцитов верифицирует повреждение основной ткани печени, что указывает на связь степени токсичности материала с возможностями самообновления гепатоцитов в условиях будущей более длительной имплантации [28]. Полученные данные же указывают на отсутствие активных процессов регенеративной пролиферации клеток в паренхиме органа.

Системная воспалительная реакция оценивается путем определения содержания цитокинов [29] и лейкограммы периферической крови. Картина крови до имплантации и на 40-е сутки после нее характеризуется перераспределением функционально неравнозначных клеток в пределах физиологических норм [30].

Таким образом, исключается возможность возникновения системного вялотекущего хронического воспаления при имплантации ДК из PCL на бедренный СНП, что подтверждает использование подобных конструкций в областях реконструктивной хирургии (артериовенозные шунты, лоскуты) [16], онкологии (моделирование опухолевого процесса) [19] и эндокринологии (модель поджелудочной железы).

При этом стоит отметить, что дальнейшее исследование PCL необходимо проводить на молекулярном уровне с изучением влияния физических параметров камеры (размер пор, упругость (в том числе продольная)) на взаимодействие с микроокружением камеры (пролиферация фибробластов, рост эндотелиоцитов, возможный гиалиноз или кальциноз артерий как внутри камеры, так и на протяжении сосудов) и процесс

деградации материала: скорость, характер получаемых продуктов и основные пути обезвреживания и выведения из организма. Для большей чистоты эксперимента дальнейшая работа должна проводиться на животных SPF-статуса с более длительными сроками имплантации для уточнения возможного ремоделирования сосудов с учетом динамики кровотока, определения наиболее функциональных *vasa vasorum*, а также развития отсроченных постимплантационных осложнений (тромбообразование).

Выводы

По данным настоящего исследования, диффузионная камера из поликапролактона, поставленная на бедренный СНП, не оказала патологических влияний как на место имплантации, так и на органы-мишени. Макро- и микроскопическая структура органов лабораторных животных экспериментальной группы определялась нормальным строением без выявления патологических изменений: не обнаружено атипии, признаков воспаления или прогрессирующих дегенеративных изменений тканей. Подсчет стромально-паренхиматозного соотношения показал отсутствие патологических изменений регенеративного характера: признаков фиброза, избыточного ангиогенеза или экспансивного роста паренхимы.

Показатели лейкоцитарной формулы крови до эксперимента и на 40-е сутки после него свидетельствуют об отсутствии патологических системных изменений в организме лабораторных животных при имплантации диффузионных камер на бедренный СНП. Колебания при таких сроках не показали статистических отклонений

от доимплантационного периода, что свидетельствует о достаточной изоляции материала от внутренних сред организма.

Применение ДК (PCL) можно считать безопасной инженерной конструкцией при имплантации на крупные сосуды, в частности, бедренный СНП с позиции ее

биосовместимости. Важно отметить, что изучение влияния продуктов биодеградации поликапролактона до сих пор остается актуальным при выборе предмета научных исследований, что требует дальнейшего изучения системного влияния PCL при более длительных сроках биоинтеграции.

Литература

1. Abtahi S, Chen X, Shahabi S, Nasiri N. Resorbable membranes for guided bone regeneration: critical features, potentials, and limitations. *ACS Mater Au*. 2023; 3 (5): 394–417. PMID: 38089090; PMCID: PMC10510521.
2. Tan RP, Chan AHP, Wei S, Santos M, Lee BSL, Filipe EC, et al. Bioactive materials facilitating targeted local modulation of inflammation. *JACC Basic Transl Sci*. 2019; 4 (1): 56–71. PMID: 30847420; PMCID: PMC6390730.
3. Chen Tingting, Cai Tongjiang, Jin Qiao, Ji Jian. Design and fabrication of functional polycaprolactone. *E-Polymers*. 2015; 15 (1): 3–13.
4. Mkhabela Vuyiswa, Sinha Ray Suprakas. Poly(ϵ -caprolactone) nanocomposite scaffolds for tissue engineering: A brief overview. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2014; 14 (1): 535–45.
5. Liu Fengyuan, Vyas Cian, Poologasundarampillai Gowsihan, Pape Ian, Hinduja Srichand, Mirihanage Wajira, Bartolo Paulo. Structural evolution of PCL during melt extrusion 3D printing. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2017; 303 (2): 1700494.
6. Лебедева А. И., Мараева Е. В. Основные тенденции создания композитных 3d-скаффолдов на основе поликапролактона и гидроксиапатита. *Наука настоящего и будущего*. 2021; (1): 98–101.
7. Казанцева Е. А. Конструирование и оценка эффективности систем контролируемой доставки сельскохозяйственных препаратов различного действия [диссертация]. Красноярск, 2018.
8. Хоменюк С. В. Морфология регенераторных процессов при имплантации коллагенового материала с адсорбированными мультипотентными стромальными клетками [диссертация]. Новосибирск, 2023.
9. Emily Archer, Marissa Torretti, Samy Madbouly. Biodegradable polycaprolactone (PCL) based polymer and composites. *Physical Sciences Reviews*. 2021; (8): 4391–414. Available from: <https://doi.org/10.1515/psr-2020-0074>.
10. Xiang Z, Guan X, Ma Z, Shi Q, Panteleev M, Ataullakhanov FI. Bioactive engineered scaffolds based on PCL-PEG-PCL and tumor cell-derived exosomes to minimize the foreign body reaction. *Biomater Biosyst*. 2022; 6 (7): 100055. DOI: 10.1016/j.bbiosy.2022.100055. PMID: 36824486; PMCID: PMC9934494.
11. Luo L, He Y, Chang Q, Xie G, Zhan W, Wang X, et al. Polycaprolactone nanofibrous mesh reduces foreign body reaction and induces adipose flap expansion in tissue engineering chamber. *Int J Nanomedicine*. 2016; 12 (11): 6471–83. DOI: 10.2147/IJN.S114295. PMID: 27980405; PMCID: PMC5147407.
12. Fairag R, Li L, Ramirez-GarciaLuna JL, Taylor MS, Gaerke B, Weber MH, et al. A composite lactide-mineral 3D-printed scaffold for bone repair and regeneration. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 7 (9): 654518. DOI: 10.3389/fcell.2021.654518. PMID: 34307346; PMCID: PMC8299729.
13. Prabhath A, Vernekar VN, Vasu V, Badon M, Avochinou JE, Asandei AD, et al. Kinetic degradation and biocompatibility evaluation of polycaprolactone-based biologics delivery matrices for regenerative engineering of the rotator cuff. *J Biomed Mater Res A*. 2021; 109 (11): 2137–53. DOI: 10.1002/jbm.a.37200. Epub 2021 May 11. PMID: 33974735; PMCID: PMC8440380.
14. Duda S, Dreyer L, Behrens P, Wienecke S, Chakradeo T, Glasmacher B, et al. Outer electrospun polycaprolactone shell induces massive foreign body reaction and impairs axonal regeneration through 3D multichannel chitosan nerve guides. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 835269. DOI: 10.1155/2014/835269. Epub 2014 Apr 9. PMID: 24818158; PMCID: PMC4000981.
15. Берещенко В. В., Надыров Э. А., Лызилов А. Н., Петренёв Д. Р., Кондрачук А. Н. Тканевые реакции подкожной клетчатки в ответ на имплантацию полипропиленового эндопротеза, модифицированного раствором поликапролактона методом электроспиннинга. *Проблемы здоровья и экологии*. 2020; 1: 65–71.
16. Цыганков Ю. М., Сергеев А. А., Жоржколиани Ш. Т., Шепелев А. Д., Крашенинников С. В., Тенчури Т. Х. и др. Влияние биомеханической совместимости и тромбогенности нового синтетического сосудистого протеза на его интеграцию в артериальное русло (экспериментальное исследование). *Науки о жизни*. 2021; (500): 466–9. DOI: 10.31857/S2686738921050309.
17. Мишанин А. И., Панина А. Н., Большасов Е. Н., Твердохлебов С. И., Головкин А. С. Биосовместимость скаффолдов из смесей и сополимеров поликапролактона и полимолочной кислоты в тестах с мезенхимальными стволовыми клетками. *Трансляционная медицина*. 2021; 8 (5): 38–49. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-5-38-49.
18. Pankajakshan D, Krishnan VK, Krishnan LK. Vascular tissue generation in response to signaling molecules integrated with a novel poly(ϵ -caprolactone)-fibrin hybrid scaffold. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007; 1 (5): 389–97. DOI: 10.1002/term.48. PMID: 18038433.
19. Иванов А. Н., Чибрикова Ю. А., Савельева М. С., Рогожина А. С., Норкин И. А. Оценка биосовместимости поликапролактоновых скаффолдов, обеспечивающих адресную доставку щелочной фосфатазы. *Цитология*. 2020; 62 (12): 903–12. DOI 10.31857/S0041377120120032.
20. Богданов Л. А., Кутихин А. Г. Оптимизация окрашивания элементов системы кровообращения и гелатолиальной системы гематоксилином и эозином. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019; 4 (4): 70–77.
21. Новицкий В. В., Уразова О. И. Патофизиология. М.: Изд-во «ГЭОТАР-Медиа», 2022; Т. 2: 592 с.
22. Chunpeng Nie Yan Yu. Cirrhosis: pathogenesis and complications, 2022. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 22]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/cirrhosis-pathogenesis-and-complications/>.
23. Yunfu Lv, Wan Yee Lau, Yejuan Li, Jie Deng, Xiaoyu Han, Xiaoguang Gong, et al. Hypersplenism: History and current status. *Exp Ther Med*. 2016; 12 (4): 2377–82. DOI: 10.3892/etm.2016.3683.
24. Yasuko Iwakiri. Pathophysiology of portal hypertension. *Clin Liver Dis*. 2014; 18 (2): 281–91. DOI: 10.1016/j.cld.2013.12.001.
25. Dane Richard, Robin Bessemer. Nephritic syndrome: pathogenesis and clinical finding, 2016. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 22]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/nephritic-syndrome-pathogenesis-and-clinical-findings/>.
26. Kyle Moxham. Primary aldosteronism: pathogenesis and clinical findings, 2021. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 23]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/primary-aldosteronism-pathogenesis-and-clinical-findings/>.
27. Samin Dolatabadi, Yan Yu. Hypercortisolemia (Cushing's syndrome): clinical findings, 2021. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 23]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/hypercortisolemia-cushings-syndrome-clinical-findings/>.
28. Tan L, Xu X, Song J, Luo F, Qian Z. Synthesis, characterization, and acute oral toxicity evaluation of pH-sensitive hydrogel based on MPEG, poly(ϵ -caprolactone), and itaconic acid. *Biomed Res*

- Int. 2013; 2013: 239838. DOI: 10.1155/2013/239838. Epub 2013 Nov 30. PMID: 24364030; PMCID: PMC3864077.
29. Галашина Е. А., Чибрикова Ю. А., Иванов А. Н., Гладкова Е. В., Норкин И. А. Биохимические параметры интенсивности системной воспалительной реакции в оценке биосовместимости скаффолдов на основе поликапролактона и ватерита. Вестник медицинского института «Реавиз». 2020; 2: 98–103.
 30. Косякова Г. П., Муслимов А. А., Лысенко А. И. Взаимодействие иммунной и нервной систем при применении PCI-скаффолдов в челюстно-лицевой хирургии. Медицинский академический журнал. 2019; 19 (1): 82–84.
- ### References
1. Abtahi S, Chen X, Shahabi S, Nasiri N. Resorbable membranes for guided bone regeneration: critical features, potentials, and limitations. *ACS Mater Au*. 2023; 3 (5): 394–417. PMID: 38089090; PMCID: PMC10510521.
 2. Tan RP, Chan AHP, Wei S, Santos M, Lee BSL, Filipe EC, et al. Bioactive materials facilitating targeted local modulation of inflammation. *JACC Basic Transl Sci*. 2019; 4 (1): 56–71. PMID: 30847420; PMCID: PMC6390730.
 3. Chen Tingting, Cai Tongjiang, Jin Qiao, Ji Jian. Design and fabrication of functional polycaprolactone. *E-Polymers*. 2015; 15 (1): 3–13.
 4. Mkhabela Vuyiswa, Sinha Ray Suprakas. Poly(ε-caprolactone) nanocomposite scaffolds for tissue engineering: A brief overview. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2014; 14 (1): 535–45.
 5. Liu Fengyuan, Vyas Cian, Poologasundarampillai Gowsihan, Pape Ian, Hinduja Srichand, Mirihanage Wajira, Bartolo Paulo. Structural evolution of PCL during melt extrusion 3D printing. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2017; 303 (2): 1700494.
 6. Lebedeva AI, Maraeva EV. Osnovnye tendencii sozdaniya kompozitnyh 3d-scaffoldov na osnove polikaprolaktona i gidroksiapatita. *Nauka nastojashhego i budushhego*. 2021; (1): 98–101. Russian.
 7. Kazanceva EA. Konstruirovaniye i ocenka jeffektivnosti sistem kontrolirovannoy dostavki sel'skohozhajstvennyh preparatov razlichnogo dejstvija [dissertacija]. Krasnojarsk, 2018. Russian.
 8. Homenjuk S. V. Morfologiya regeneratornyh processov pri implantacii kollagenovogo materiala s adsorbirovannymi mul'tipotentnymi stromal'nymi kletkami [dissertacija]. Novosibirsk, 2023. Russian.
 9. Emily Archer, Marissa Torretti, Samy Madbouly. Biodegradable polycaprolactone (PCL) based polymer and composites. *Physical Sciences Reviews*. 2021; (8): 4391–414. Available from: <https://doi.org/10.1515/psr-2020-0074>.
 10. Xiang Z, Guan X, Ma Z, Shi Q, Pantelev M, Ataullakhanov FI. Bioactive engineered scaffolds based on PCL-PEG-PCL and tumor cell-derived exosomes to minimize the foreign body reaction. *Biomater Biosyst*. 2022; 6 (7): 100055. DOI: 10.1016/j.bbiosy.2022.100055. PMID: 36824486; PMCID: PMC9934494.
 11. Luo L, He Y, Chang Q, Xie G, Zhan W, Wang X, et al. Polycaprolactone nanofibrous mesh reduces foreign body reaction and induces adipose flap expansion in tissue engineering chamber. *Int J Nanomedicine*. 2016; 12 (11): 6471–83. DOI: 10.2147/IJN.S114295. PMID: 27980405; PMCID: PMC5147407.
 12. Fairag R, Li L, Ramirez-Garcia Luna JL, Taylor MS, Gaerke B, Weber MH, et al. A composite lactide-mineral 3D-printed scaffold for bone repair and regeneration. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 7 (9): 654518. DOI: 10.3389/fcell.2021.654518. PMID: 34307346; PMCID: PMC8299729.
 13. Prabhath A, Vernekar VN, Vasu V, Badon M, Avochinou JE, Asandei AD, et al. Kinetic degradation and biocompatibility evaluation of polycaprolactone-based biologics delivery matrices for regenerative engineering of the rotator cuff. *J Biomed Mater Res A*. 2021; 109 (11): 2137–53. DOI: 10.1002/jbm.a.37200. Epub 2021 May 11. PMID: 33974735; PMCID: PMC8440380.
 14. Duda S, Dreyer L, Behrens P, Wienecke S, Chakradeo T, Glasmacher B, et al. Outer electrospun polycaprolactone shell induces massive foreign body reaction and impairs axonal regeneration through 3D multichannel chitosan nerve guides. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 835269. DOI: 10.1155/2014/835269. Epub 2014 Apr 9. PMID: 24818158; PMCID: PMC4000981.
 15. Bereshhenko VV, Nadyrov JeA, Lyzikov AN, Petrenjov DR, Kondrachuk AN. Tkanevye reakcii podkozhnoj kletchatki v otvet na implantaciju polipropilenvogo jendoproteza, modifirovannogo rastvorom polikaprolaktona metodom jelektrospinninga. *Problemy zdorov'ja i jekologii*. 2020; 1: 65–71. Russian.
 16. Cygankov JuM, Sergeev AA, Zhorzholiani ShT, Shepelev AD, Krashennikov SV, Tenchurin TH, i dr. Vlijanie biomechanicheskoy sovmestivosti i trombogennosti novogo sinteticheskogo sosudistogo proteza na ego integraciju v arterial'noe ruslo (jeksperimental'noe issledovanie). *Nauki o zhizni*. 2021; (500): 466–9. DOI: 10.31857/S2686738921050309. Russian.
 17. Mishanin AI, Panina AN, Bol'basov EN, Tverdohlebov SI, Golovkin AS. Biosovmestimost' skaffoldov iz smesej i sopolimerov polikaprolaktona i polimolochnoj kisloty v testah s mezenhimal'nymi stvolovymi kletkami. *Translacionnaja medicina*. 2021; 8 (5): 38–49. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-5-38-49. Russian.
 18. Pankajakshan D, Krishnan VK, Krishnan LK. Vascular tissue generation in response to signaling molecules integrated with a novel poly(epsilon-caprolactone)-fibrin hybrid scaffold. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007; 1 (5): 389–97. DOI: 10.1002/term.48. PMID: 18038433.
 19. Ivanov AN, Chibrikova JuA, Saveleva MS, Rogozhina AS, Norkin IA. Ocenka biosovmestivosti polikaprolaktonovyh skaffoldov, obespechivajushhih adresnuju dostavku shhelochnoj fosfatazy. *Citologija*. 2020; 62 (12): 903–12. DOI: 10.31857/S0041377120120032. Russian.
 20. Bogdanov LA, Kutihin AG. Optimizacija okrashivaniya jelementov sistemy krovoobrashhenija i gepatolienal'noj sistemy gematoksilinom i jeozinom. *Fundamental'naja i klinicheskaja medicina*. 2019; 4 (4): 70–77. Russian.
 21. Novickij VV, Urazova OI. Patofizilogija. M.: Izd-vo «GJeOTAR-Media», 2022; T. 2: 592 s. Russian.
 22. Chunpeng Nie Yan Yu. Cirrhosis: pathogenesis and complications, 2022. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 22]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/cirrhosis-pathogenesis-and-complications/>.
 23. Yunfu Lv, Wan Yee Lau, Yejuan Li, Jie Deng, Xiaoyu Han, Xiaoguang Gong, et al. Hypersplenism: History and current status. *Exp Ther Med*. 2016; 12 (4): 2377–82. DOI: 10.3892/etm.2016.3683.
 24. Yasuko Iwakiri. Pathophysiology of portal hypertension. *Clin Liver Dis*. 2014; 18 (2): 281–91. DOI: 10.1016/j.cld.2013.12.001.
 25. Dane Richard, Robin Bessemer. Nephritic syndrome: pathogenesis and clinical finding, 2016. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 22]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/nephritic-syndrome-pathogenesis-and-clinical-findings/>.
 26. Kyle Moxham. Primary aldosteronism: pathogenesis and clinical findings, 2021. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 23]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/primary-aldosteronism-pathogenesis-and-clinical-findings/>.
 27. Samin Dolatabadi, Yan Yu. Hypercortisolemia (Cushing's syndrome): clinical findings, 2021. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 23]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/hypercortisolemia-cushings-syndrome-clinical-findings/>.
 28. Tan L, Xu X, Song J, Luo F, Qian Z. Synthesis, characterization, and acute oral toxicity evaluation of pH-sensitive hydrogel based on MPEG, poly(ε-caprolactone), and itaconic acid. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 239838. DOI: 10.1155/2013/239838. Epub 2013 Nov 30. PMID: 24364030; PMCID: PMC3864077.
 29. Galashina EA, Chibrikova JuA, Ivanov AN, Gladkova EV, Norkin IA. Biohimicheskie parametry intensivnosti sistemnoj vospalitel'noj reakcii v ocenke biosovmestivosti skaffoldov na osnove polikaprolaktona i vaterita. *Vestnik medicinskogo instituta «Reaviz»*. 2020; 2: 98–103. Russian.
 30. Kosjakova GP, Muslimov AA, Lysenko AI. Vzaimodejstvie immunnoj i nervnoj sistem pri primenenii PCI-scaffoldov v cheljuzhno-licevoj hirurgii. *Medicinskij akademicheskij zhurnal*. 2019; 19 (1): 82–84. Russian.