

Полимерные материалы для тканевой инженерии и трансплантологии

Заведующий лабораторией ПМТИТ
д.ф.-м.н. Юдин Владимир Евгеньевич



ИНСТИТУТ
ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



ПОЛИТЕХ
Санкт Петербургский
политехнический университет
Петра Великого

Гранты Российского научного фонда (РНФ)

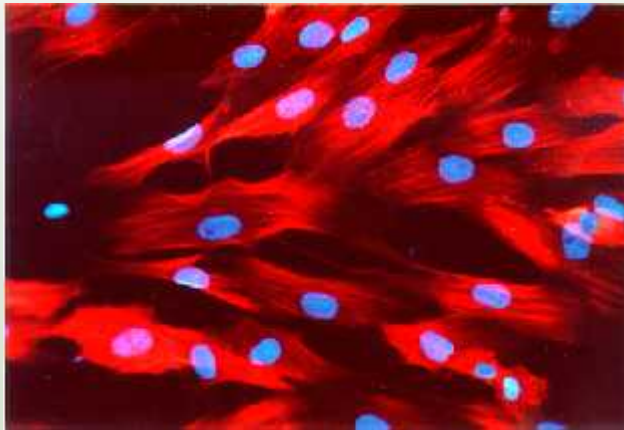
14-33-00003 2014-2016 гг.	Полимерные нанокомпозиты для тканевой инженерии и трансплантологии	Конкурс 2014 г. «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований вновь создаваемыми научной организацией и вузом совместными научными лабораториями»
14-33-00003 2017-2018 гг.	Полимерные нанокомпозиты для тканевой инженерии и трансплантологии	Конкурс на продление сроков выполнения проектов, поддержанных грантами Российского научного фонда по приоритетному направлению деятельности Российского научного фонда «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований вновь создаваемыми научной организацией и вузом совместными научными лабораториями»
19-73-30003 2019-2022 гг.	Электропроводящие полимерные материалы для тканевой инженерии	Конкурс 2019 года по мероприятию «Проведение исследований научными лабораториями мирового уровня в рамках реализации приоритетов научно-технологического развития Российской Федерации» Президентской программы исследовательских проектов, реализуемых ведущими учеными , в том числе молодыми учеными.

В область научной деятельности лаборатории входят:

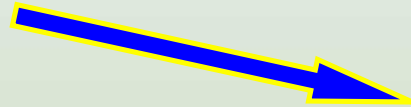
- Разработка полимерных и композиционных биоматериалов для трансплантологии, клеточных технологий и тканевой инженерии;
- Исследование структуры и физико-механических свойств, биосовместимости, скорости и механизма биорезорбции материалов;
- Доклинические исследования разрабатываемых материалов *in vitro*, *in vivo*.

Тканевая инженерия

Культивируемые клетки

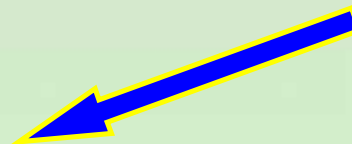


- + Стимулирующие факторы
- Клеточное деление
- Взаимодействие клеток
- Доступ кислорода и т.п.



Скэффолд

Полимерная матрица



Имплантация

Хенч Л., Джонс Д.
Биоматериалы, искусственные органы и
инжиниринг тканей. Москва: Техносфера, 2007

Лаборатория «Полимерные материалы для тканевой инженерии и трансплантологии», кафедра «МедФиз»

Получение полимерных матриц



Исследование свойств полимеров



Доклинические исследования

ТСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

СПб Педиатрический Университет

НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О.Отто

Кластер для культивирования клеток



Оборудование для получения полимерных материалов



Микроэкструдер с приставкой для получения пленок и волокон DSM 5 Xplore



Терморегулируемый каландр и пресс



Установка для формирования волокон из растворов



Установка для лиофильной сушки



Установка для получения нановолокон методом электроформования



Установка для электростатического нанесения порошка полимера

Оборудование для исследования структуры и свойств материалов



Электронный сканирующий микроскоп Supra 55 VP,
Carl Zeiss
с криоприставкой



Оптический микроскоп ZEISS Axio Scope.A1



Реометр MCR301
Anton Paar



Прибор для измерения краевого угла смачивания DSA30,
Kruss

Оборудование для исследования термических и электрофизических свойств материалов



ТГА TG 209F1 сопряженный с квадрупольным масспектрометром QMG 403C, NETZSCH



ДСК DSC 204F1, NETZSCH

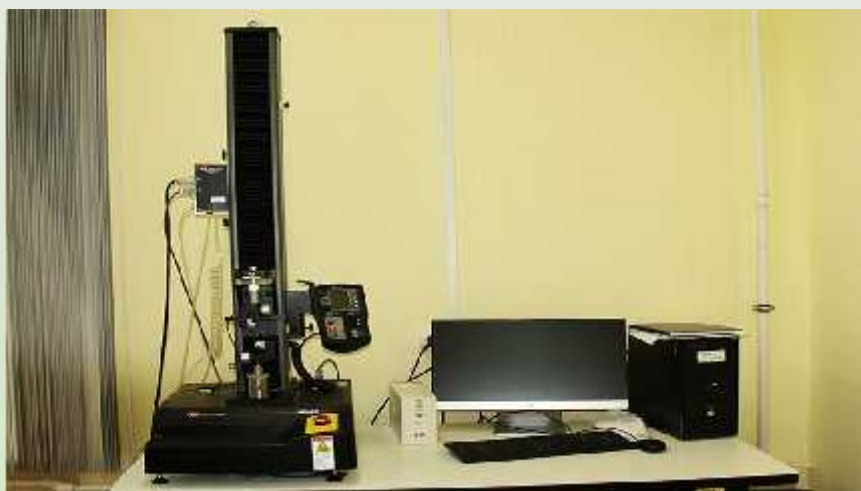


Пикоамперметр/источник питания Keithley 6487



Диэлектрический анализатор DEA 288,
NETZSCH

Оборудование для определения механических свойств материалов



Установка для исследования прочностных и упругих свойств материалов Instron 5940



Электродинамическая система ElectroPuls E1000, Instron



Прибор для динамического механического анализа DMA 242C, NETZSCH

Перечень приборов для решения биологических задач

- CO₂ инкубатор Thermo Scientific 8000 WJ
- Микроскоп инвертированный Primo Vert, Zeiss для визуализации клеточных культур.
- Счетчик клеток Countess II Automated Cell Counter, Thermo Fisher Scientific для подсчета и анализа жизнеспособности клеток.
- Планшетный спектрофотометр SPECTROstar NANO для определения массовой концентрации неорганических и органических примесей в жидких пробах фотометрическим методом измерения.
- Флуоресцентный микроскоп Axio Vert.A1



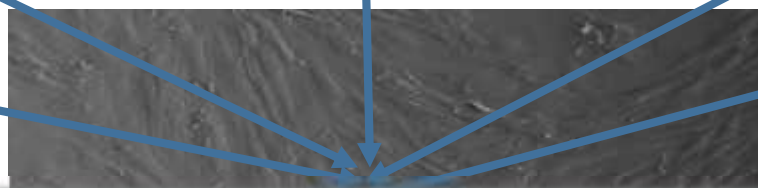
RTSA iCELLigence клеточный анализатор на базе iPad для динамического в реальном времени анализа клеточных ответов без использования дополнительных маркеров или меток.



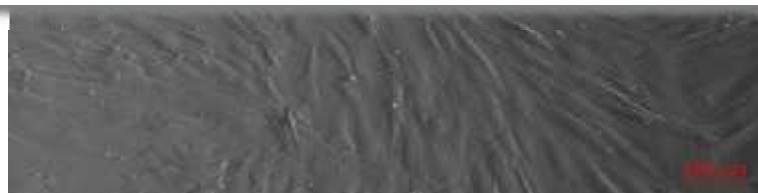
Клеточный анализатор Muse®

Кластер клеточных культур

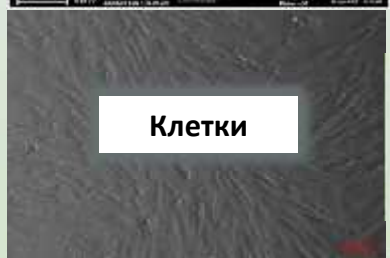
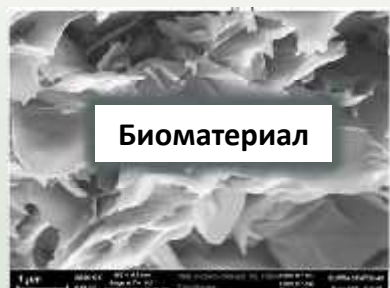
Выделение, типирование, культивирование и криогенное хранение клеток



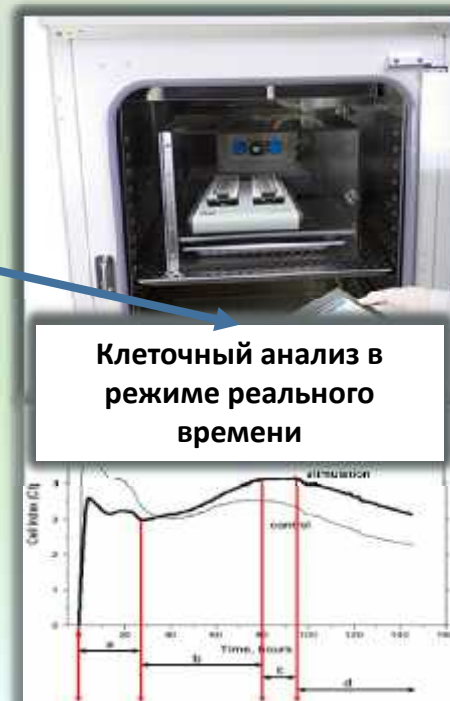
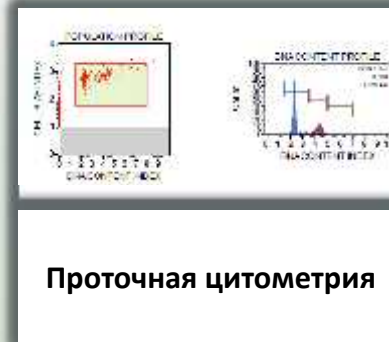
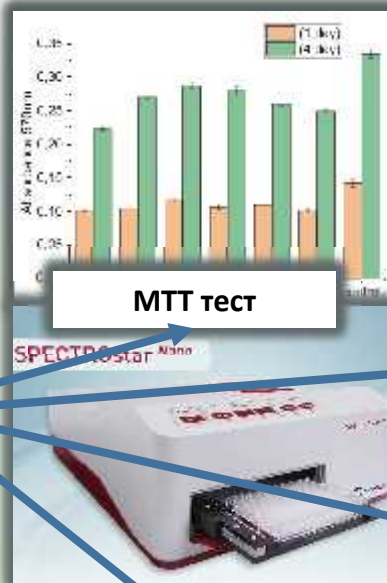
Коллекция
соматических, стволовых и раковых культур клеток человека и животных



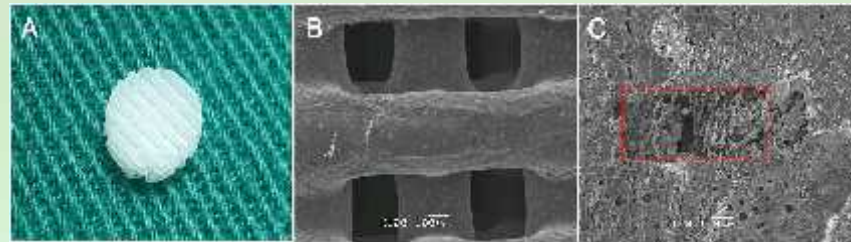
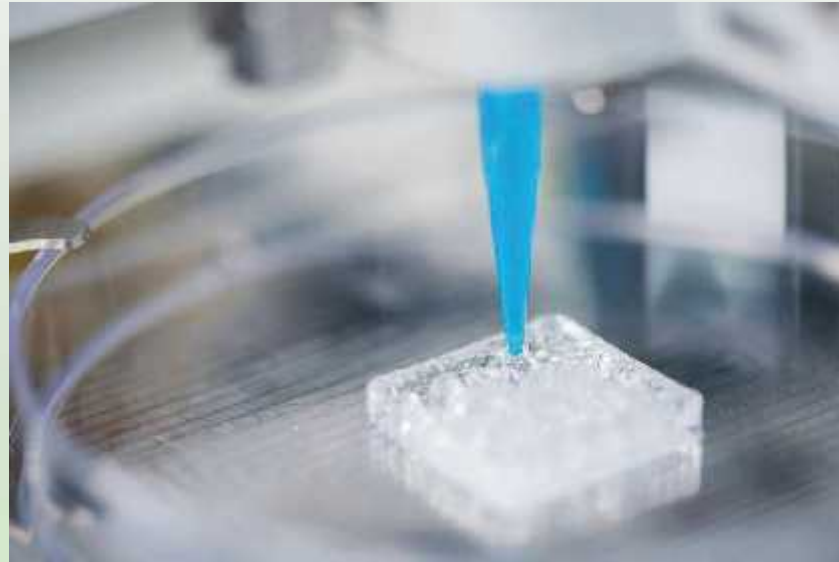
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ МАТРИЦ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO*



Биологический
ответ



3D-Биопечать органов и тканей



PLA скаффолд, заполненный
гидрогелем хитозана

Область применения:

- ☐ тканевая инженерия;
- ☐ регенеративная медицина;
- ☐ тестирование лекарственных препаратов in vitro;
- ☐ печать индивидуальных протезов, соответствующих по размеру и форме типу дефекта костной ткани

Форма и структура полимерных матриц

- Одномерные матрицы – волокна, прообразы мышечной, нервной ткани, сосудов, связок.
- Двумерные матрицы – пленки, прообраз покровной ткани (кожи).
- Трехмерные матрицы – губки и нетканые материалы, прообразы костной, хрящевой тканей и тканей паренхиматозных органов.



Полимеры для тканевой Инженерии

Биосовместимые полимеры - это полимеры, которые не являются токсичными для организма человека или животного после их имплантации

```
graph TD; A[Биосовместимые полимеры - это полимеры, которые не являются токсичными для организма человека или животного после их имплантации] --> B[Биоинертные полимеры  
Нерассасывающиеся  
(not-resorbable)]; A --> C[Биорезорбируемые полимеры  
(fully-resorbable)];
```

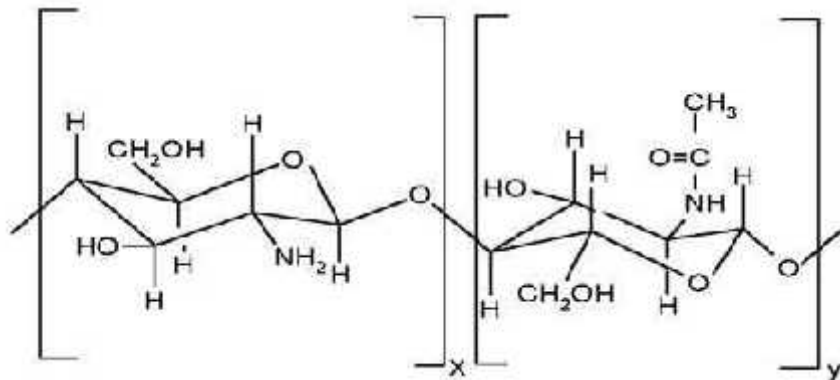
**Биоинертные
полимеры
Нерассасывающиеся
(not-resorbable)**

**Биорезорбируемые
полимеры
(fully-resorbable)**

ХИТОЗАН обладает следующим характеристиками:

1. Биосовместимость
2. Биорезорбируемость
3. Нетоксичность
4. Экологичность растворителя (р-р уксусной кислоты)
5. Продукт резорбции **Глюкозамин** (Компонент хрящевой ткани и суставной жидкости)

Хитозан (N-ацетил-1,4-b-D-глюкопиранозамин)



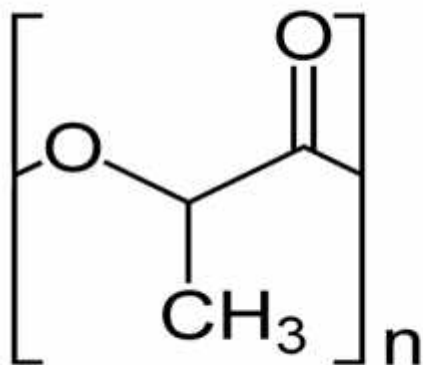
$M_w = 250 \text{ kDa}$; Сд 80%

Хитозан (4%) растворяется в 2% (водный раствор) уксусной кислоте



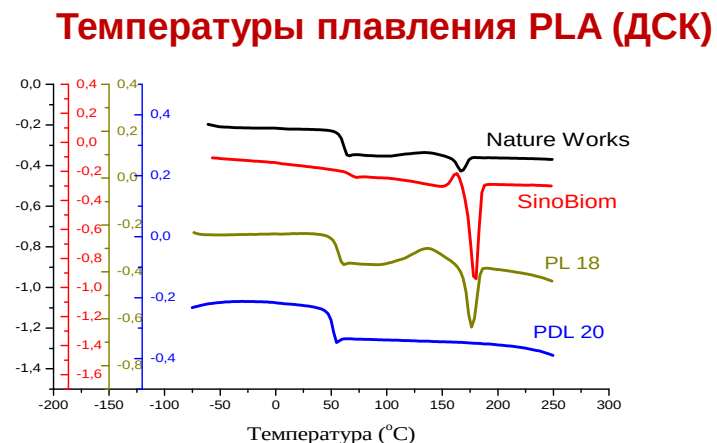
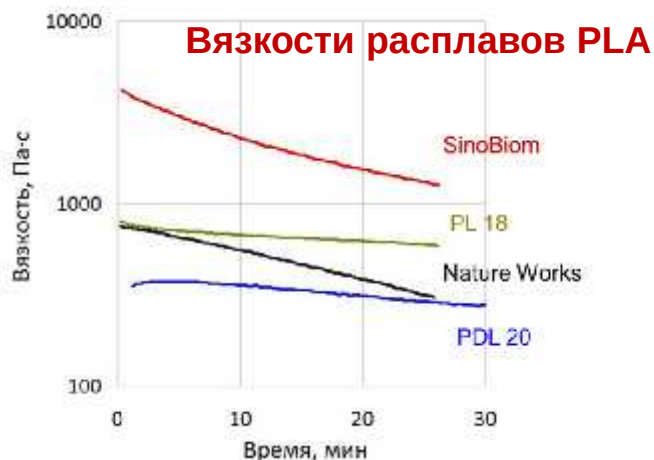
Полилактид (PLA)

Термопластичный сложный полиэфир, получаемый из возобновляемых ресурсов. Благодаря биосовместимости и биорезорбции используется в хирургии и фармации.



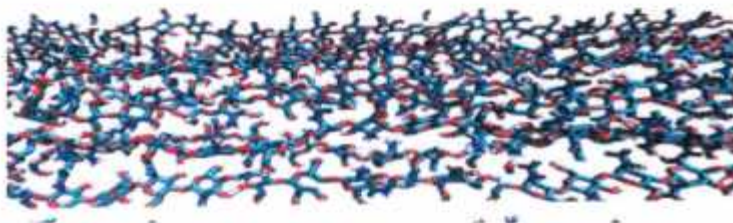
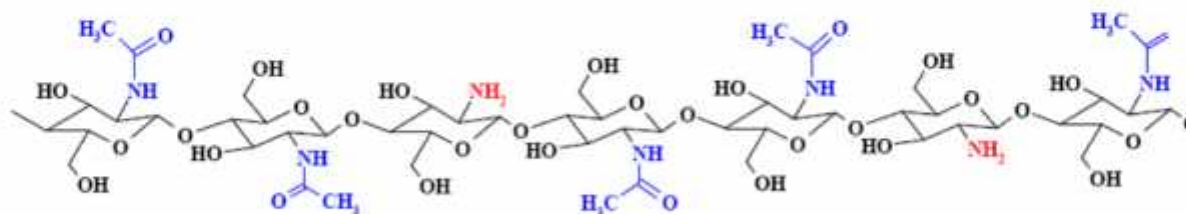
Фирмы - производители

- SinoBiom PL50 (Китай) L-лактид
- PURAC PL18 (Нидерланды) L-лактид
- Nature Works 4032D (США) L,D-лактид
- PURAC PDL20 (Нидерланды) L,D-лактид



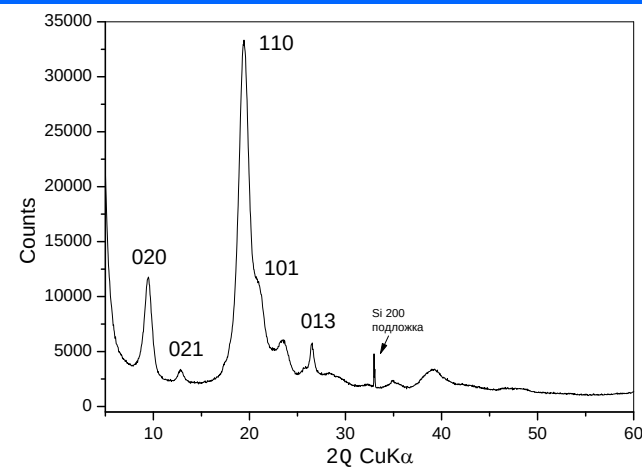
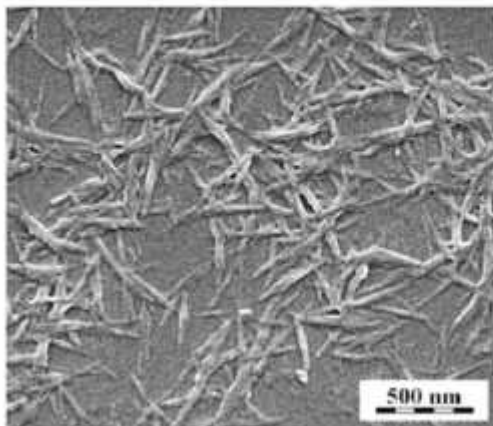


Биосовместимые наноразмерные частицы **CHITIN NANOFIBRILS** (Mavi Sud s.r.l., Italy)



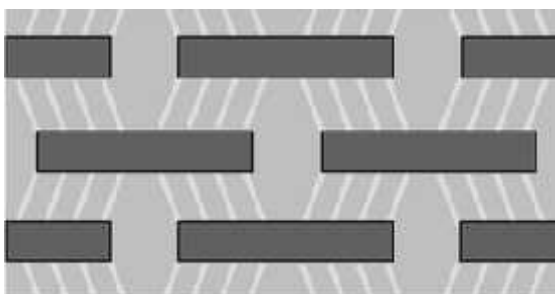
E.F. Franca, L.C.G. Freitas, R.D. Lins, Chitosan Molecular Structure as a Function of N-Acetylation, Biopolymers 95 (2011) 448-460

Рентгенограмма порошка ХИТИНА



Биосовместимые наноразмерные частицы ГидроксиАпатит (ГА)

Схема костной ткани

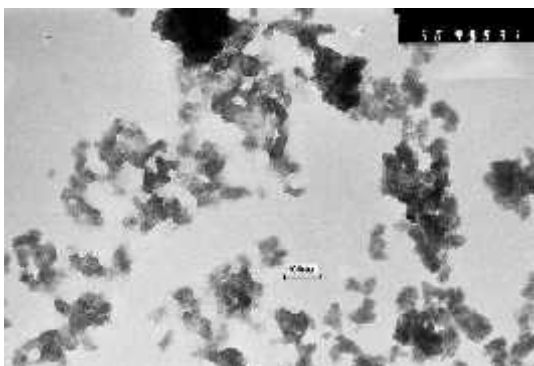


Calcium Hydroxyapatite

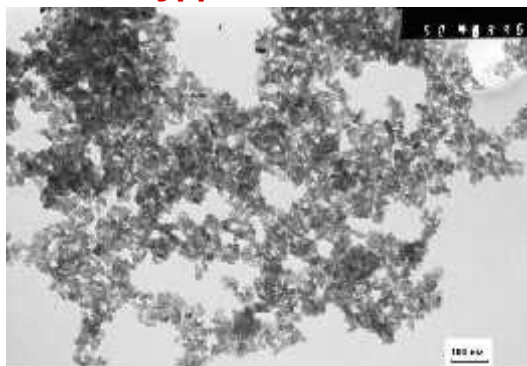


Институт химии силикатов РАН
К.х.н. Масленникова Т.П.
Метод гидротермального синтеза

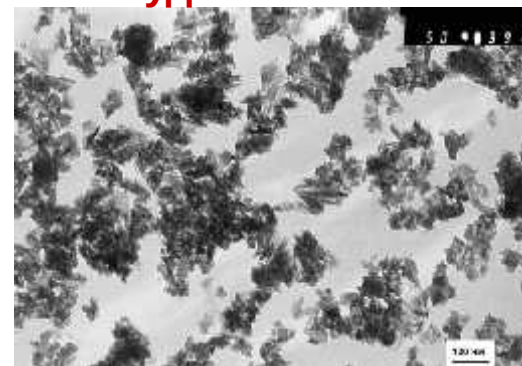
$D/L = 1.0 \pm 0.1$
 $S_{уд} = 180 \pm 9 \text{ м}^2/\text{г}$



$D/L = 2.9 \pm 0.1$
 $S_{уд} = 110 \pm 6 \text{ м}^2/\text{г}$



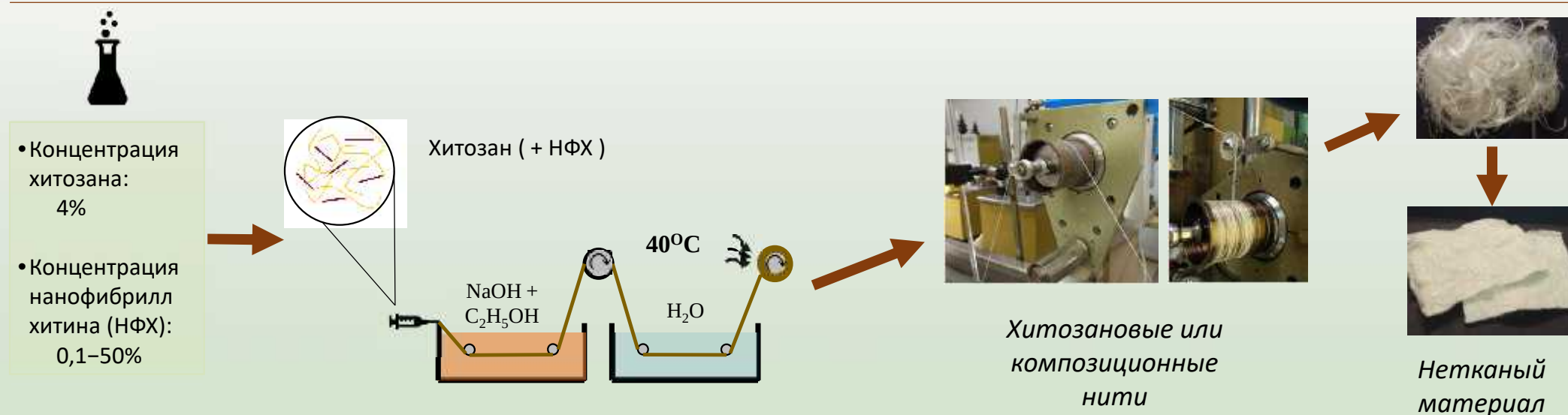
$D/L = 6.6 \pm 1.0$
 $S_{уд} = 115 \pm 6 \text{ м}^2/\text{г}$



Потенциально перспективные направления исследований:

- Тканеинженерные препараты на основе биорезорбируемых полимеров для сосудистой хирургии;
- Биорезорбируемые полимерные кондуиты для регенерации и стимуляции роста периферических нервов;
- Композиционные материалы для детской краниопластики на основе биорезорбируемых полимеров;
- Гемостатические материалы на основе биорезорбируемых полимеров;
- Биополимерных раневых покрытий для лечения ожогов кожи;
- Хирургические шовные нити с антибактериальными свойствами на основе алифатических полиэфиров;
- Биоматериалы для офтальмологии на основе фиброин шелка;
- Пористые полимерные матрицы на основе хитозана для костной трансплантологии;
- Синтетические и природные гидрогели для биопечати органов и тканей.

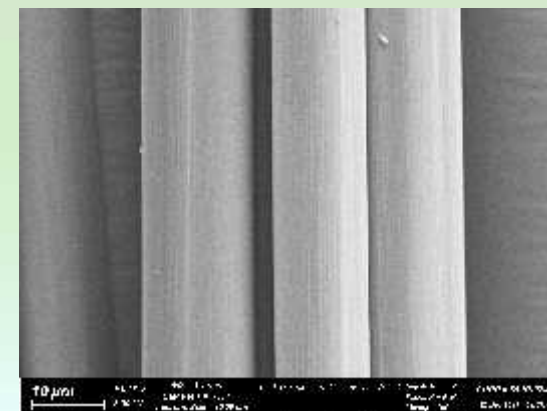
Способ получения хитозановых нитей и нетканого материала



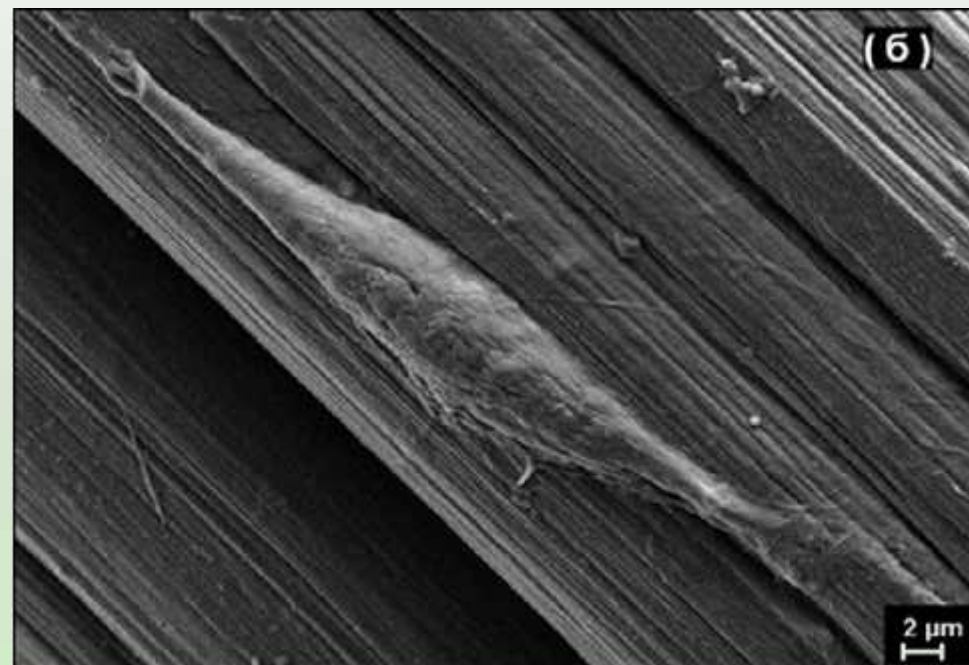
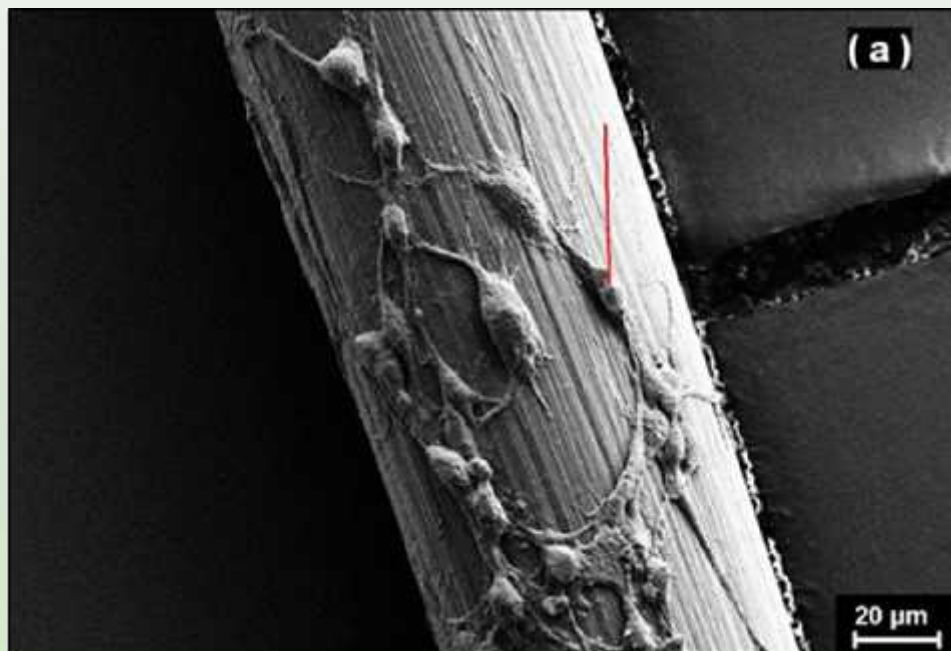
Механические характеристики хитозановых полифиламентных нитей

Прочность, МПа	240 ± 10
Модуль упругости, ГПа	15 ± 1
Деформация до разрыва, %	7 ± 1

Микрофотографии хитозановых нитей



Адгезия мезенхимных стромальных клеток на поверхности хитозановых волокон



Микрофотографии поверхности волокон из хитозана после культивирования мезенхимных стромальных клеток в течение 3 суток.

Местные гемостатики



Разрез сосуда

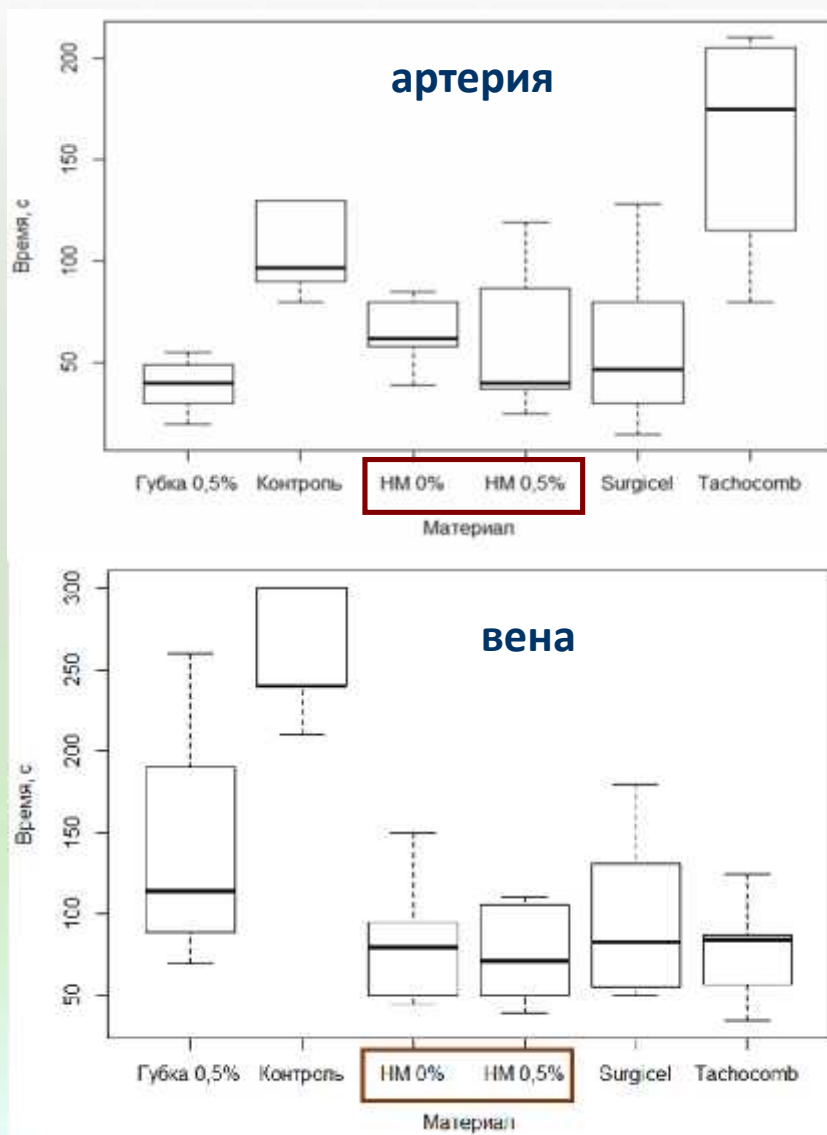


Время до полной остановки кровотечения



Время остановки кровотечения, с

Испытания гемостатических свойств материалов *in vivo*



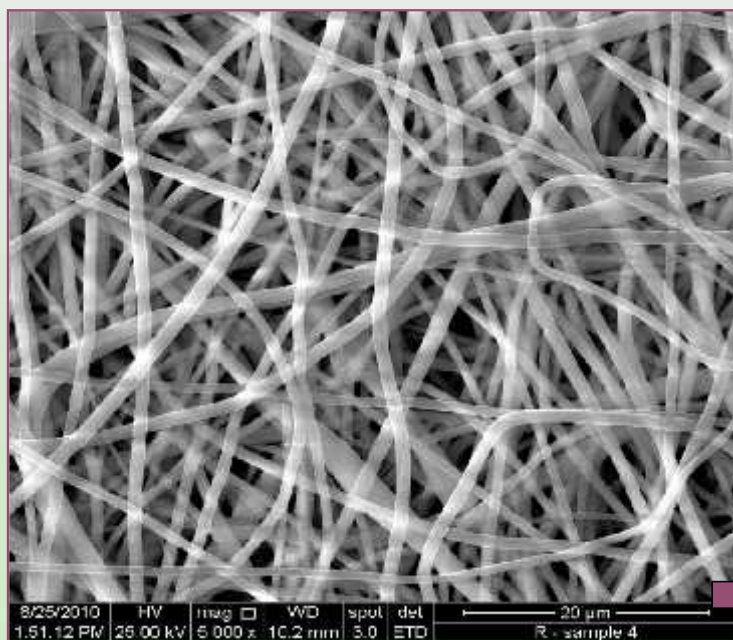
КОММЕРЧЕСКИ ДОСТУПНЫЕ МЕСТНЫЕ ГЕМОСТАТИКИ

Состав	Вид материала
КОММЕРЧЕСКИ ДОСТУПНЫЕ МЕСТНЫЕ ГЕМОСТАТИКИ	
Окисленная целлюлоза Surgicel Nu-Knit (Johnson & Johnson, США)	Плетеный материал
коллаген, фибриноген, тромбин ТахоКомб (Takeda GMBh, Австрия)	губка

Нетканый материал из композиционных волокон сопоставим по скорости достижения гемостаза с зарубежными коммерческим гемостатиками.

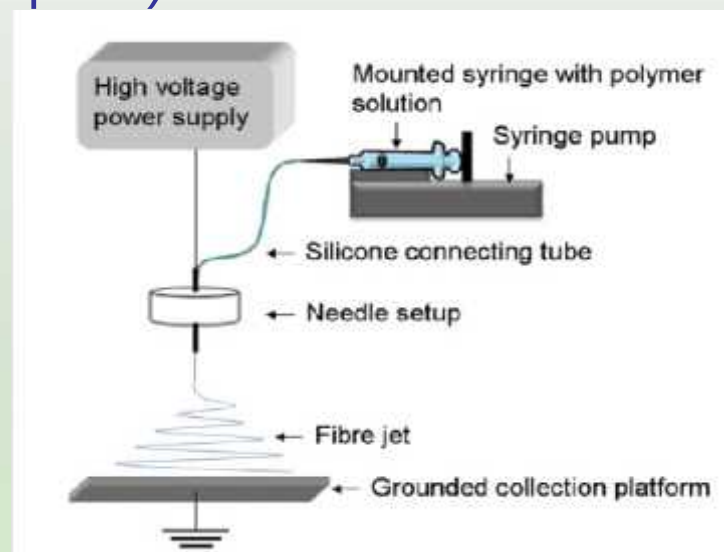
Раневые покрытия на основе биополимеров

Пористые материалы из нановолокон на основе алифатического сополиамида, СПА (сополимер капрона)

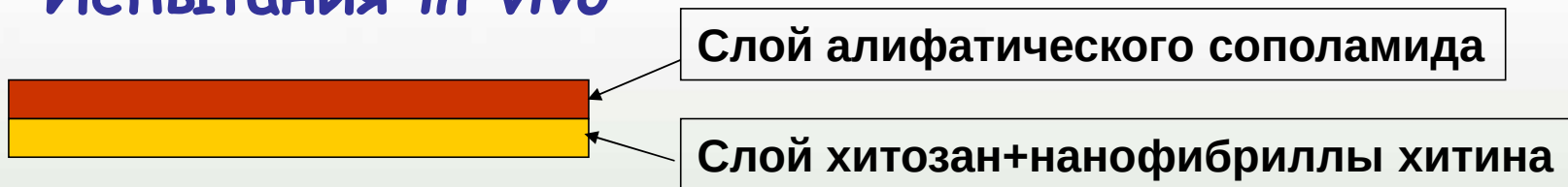


СПА 20% Ø 800 nm

Удельная поверхность - 5 м²/г
Объемная пористость - 94 %
Размер пор - 2 – 20 мкм



Испытания *in vivo*



- ▶ **Внешний слой из нановолокон из алифатического сополиамида**
 - Хорошие механические характеристики
 - Структура, обеспечивающая газообмен
 - Хорошая покрывающая способность
- ▶ **Внутренний слой из композитных волокон (хитозан + нановолокна хитина)**
 - Биорезорбируемость
 - Атравматичность готового покрытия
 - Бактерицидность





Гнойное осложнение в
ране у крысы контрольной
группы (4 недели)



Рана животного после
наложения хитозан-
сополиамидного покрытия
(4 недели)

Композиты для детской краниопластики

Краниопластика – это хирургическое устранение дефекта черепа.

Основные цели краниопластики:

- защита мозга,
- уменьшение или предотвращение неврологических нарушений,
- косметический результат,
- оказание положительного влияния на обменные процессы головного мозга.

Основные материалы:

- аутоотрансплантаты,
- полиметилметакрилат,
- титан.

Недостатки:

- Наличие дефицита пластического материала (аутоотрансплантаты),
- высокий модуль упругости по сравнению с костью (титан),
- необходимость проведения повторной операции для удаления нерезорбируемого материала;

Невозможность применения существующих имплантатов в детской ортопедии.



Схематическое представление устранения дефекта черепа

**Решение проблемы:
получение полностью резорбируемых
композитов, армированных
волокнистыми наполнителями**

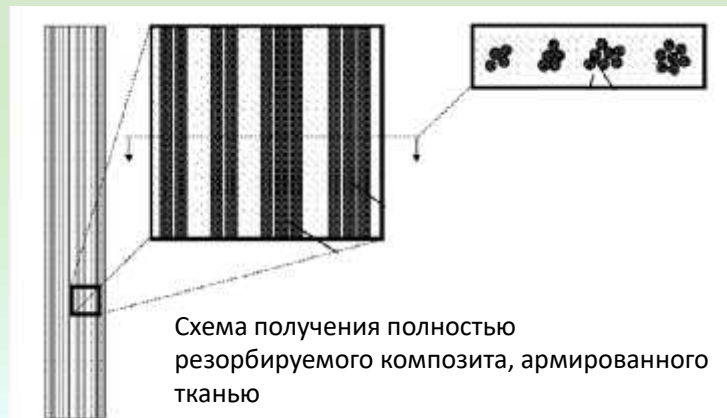


Схема получения полностью резорбируемого композита, армированного тканью

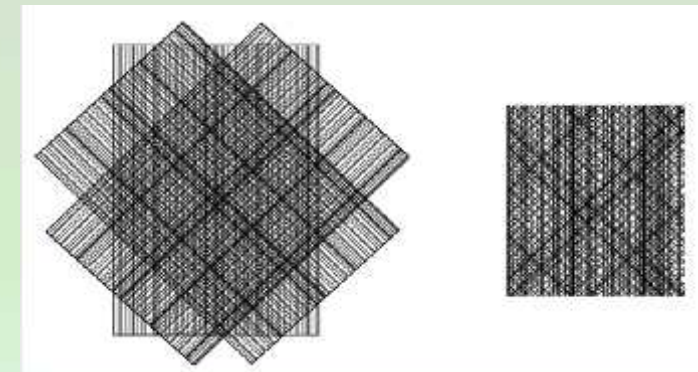
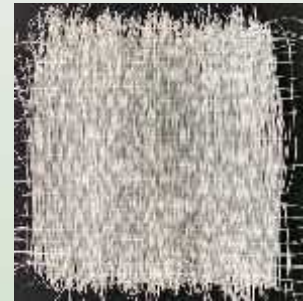
Биорезорбируемый композит

Матрица:

Полилактид,
поликапролактон

Наполнитель:

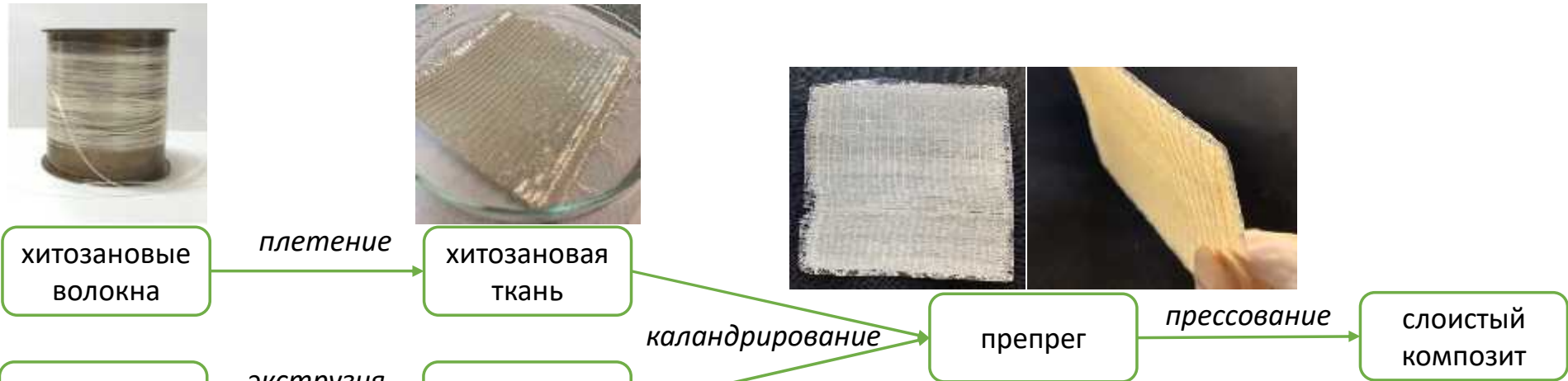
Хитозановая ткань



Композиты для краниопластики

Проблема отсутствия материалов для костной пластики, удовлетворяющих одновременно требованиям сопоставимости с прочностью костной ткани и резорбции с потерей прочностных свойств соизмеримой со скоростью образования новой костной ткани.

Решение проблемы:
получение полностью резорбируемых композитов, армированных волокнистыми наполнителями



Материал	Модуль Юнга, ГПа	Прочность, МПа	Время деградации, мес.
Кость кортикальная	7-40	90-120	-
Титановый сплав	110-127	900	-
Нержавеющая сталь	180-205	500-1000	-
Гидроксиапатит	80-110	500-1000	>24
Поли(L-лактид)	4,8	28-230	24-68
Полигликолид	7	35-92	6-12
Поликапролактон	0,4	23	>24

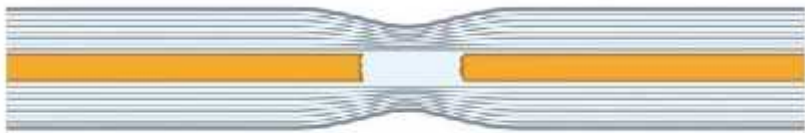
Процесс регенерации периферической нервной системы

Задача для адекватного процесса регенерации нерва заключается в том, чтобы правильно соединить проксимальный конец с дистальным для беспрепятственного прорастания аксонов и предотвращения образования невромы.

Повреждения периферических нервов бывают следующих видов:



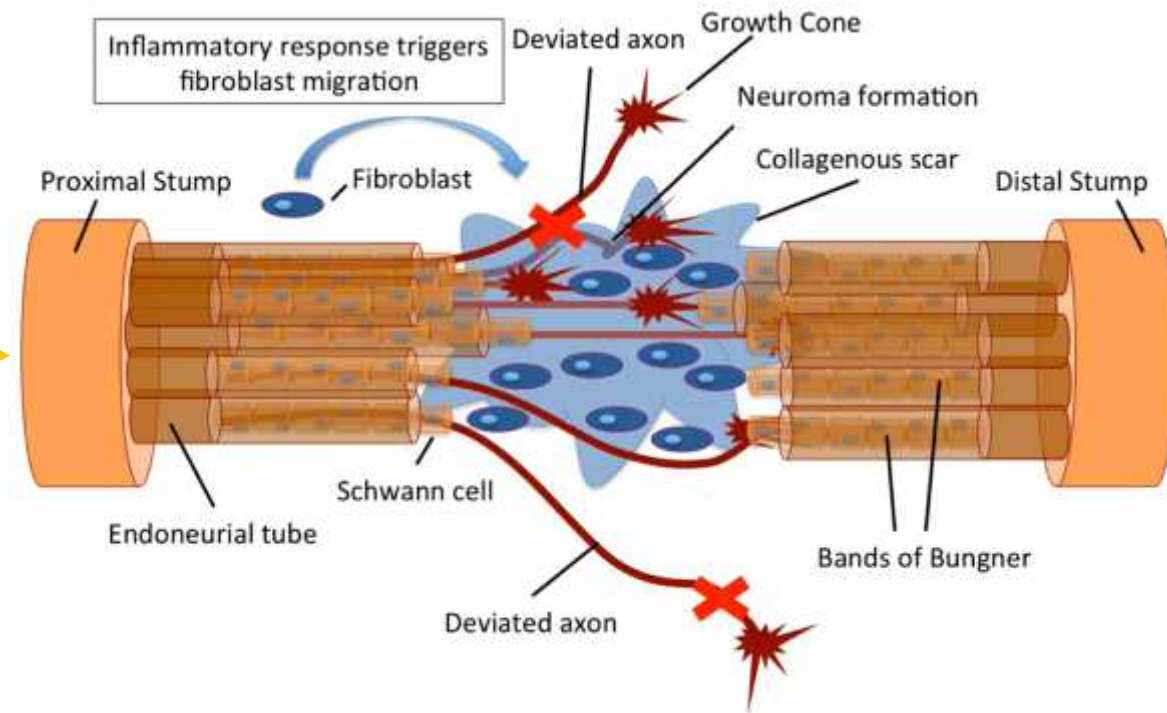
Нейропраксия (травматизация без повреждения аксона или миелиновой оболочки)



Асонтмезис (повреждение аксона, целостность миелиновой оболочки не нарушена)



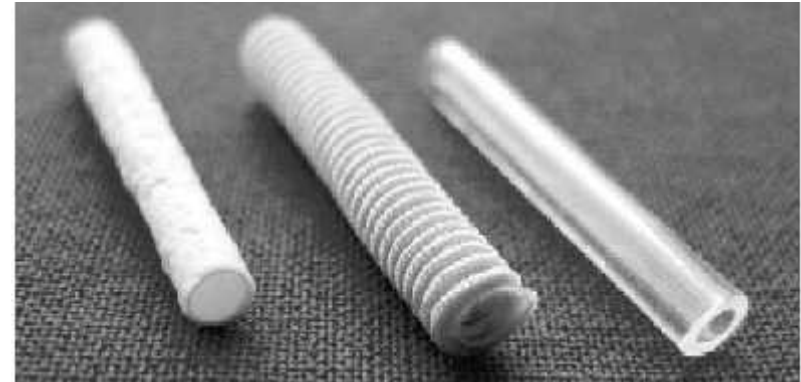
Нейротмезис (нарушение целостности как аксона, так и миелиновой оболочки)



Кондуиты с наполнителями для направления и ускорения процесса регенерации нервных волокон

Недостатки существующих кондуитов:

- не могут замещать дефекты более 3 см;
- вызывают иммунные реакции отторжения;
- сложность хирургического применения;
- если имплантат получен на основе нерезорбируемого материала, то требуется повторная операция для его удаления.



Collagen I NeuraGen; PGA NeuroTube; PLACL Neurolac



Neuromend;



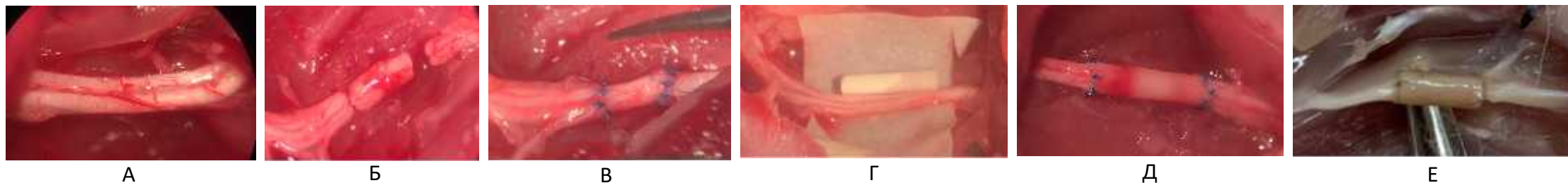
Axo Guard

Разработка резорбируемых трубчатых кондуитов с модификаторами – наполнителями, способствующими направленному росту аксонов и ускоряющими процесс регенерации.

Кондуиты для регенерации периферических нервов

ЦЕЛЬ: получение и исследование трубчатых кондуитов, модифицированных волокнистыми наполнителями, ориентированными вдоль направления роста аксонов для восстановления нерва размером более 3 см.

Замещение периферического нерва с использованием полилактидного кондуита, наполненного хитозановыми волокнами

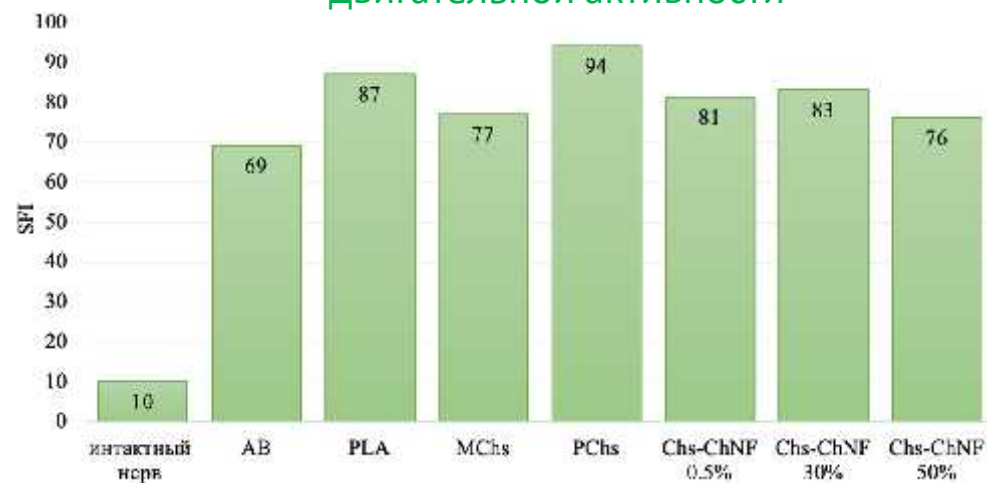


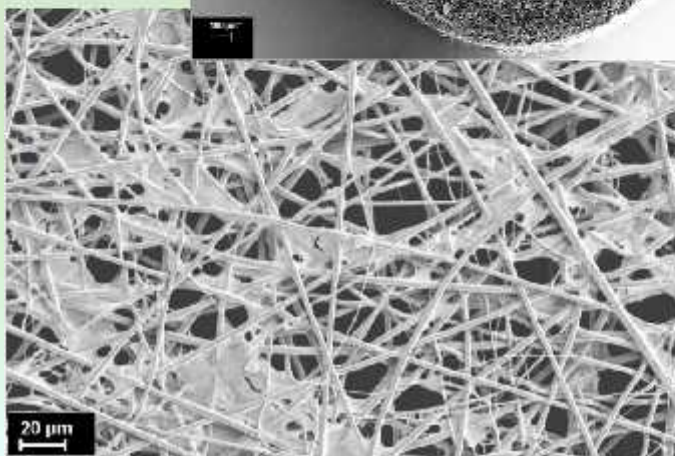
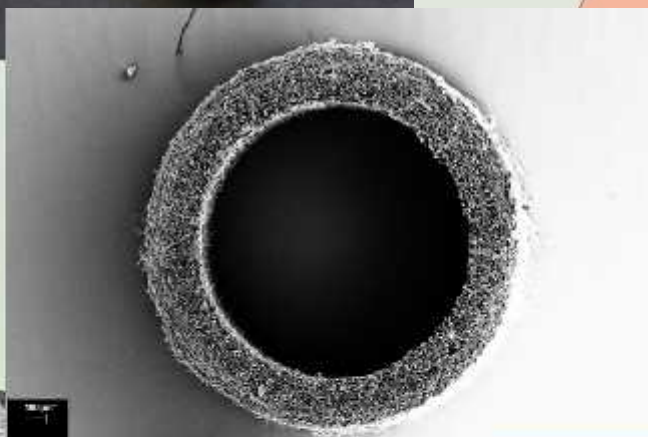
А – седалищный нерв
Б – седалищный нерв с диастазом
В – замещение дефекта с помощью аутоневральной вставки
Г – трубчатый кондуит для замещения дефекта нерва
Д – замещение дефекта с помощью трубчатого кондуита
Е – трубчатый кондуит через 4 месяца после имплантации

Результаты исследования восстановления проводимости нервов (ЭНМГ)

Трубчатый кондуит	Значения амплитуды М-ответа (мВ)		
	интактный нерв	через 30 суток	через 120 суток
Аутоневральная вставка	26.6–31.2	4.8–8.1	12.7–16.7
PLA (полый)	30.1	4.0	7.1
MChs	24.3	4.1	12.5
PChs	29.3	3.0	5.1
Chs-ChNF 0.5%	32.5	2.9	10.1
Chs-ChNF 30%	25.8	3.7	11.2
Chs-ChNF 50%	25.6	4.9	12.2

Результаты исследования восстановления двигательной активности





Имплантаты кровеносных сосудов на основе биорезорбируемых полимеров

Пористые матрицы малого диаметра
($D < 6$ мм)

Биосовместимые

Биодеградируемые

Обладают хорошими физико-механическими свойствами

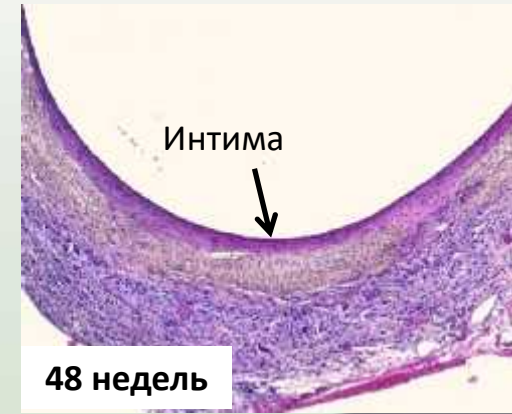
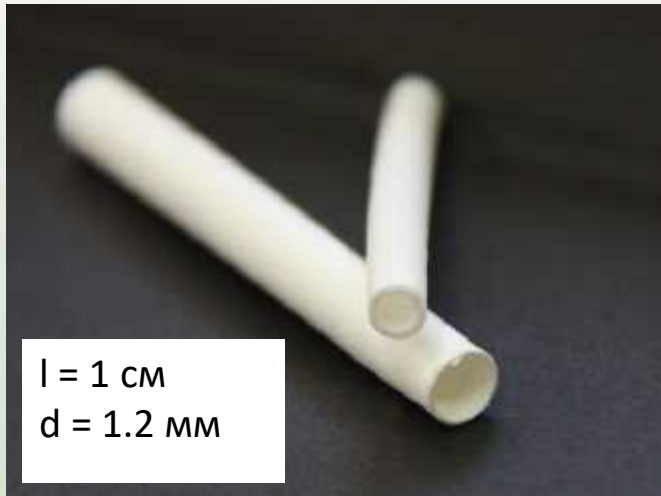
Прогнозируемая скорость резорбции

Проходимость протезов в течение длительного времени

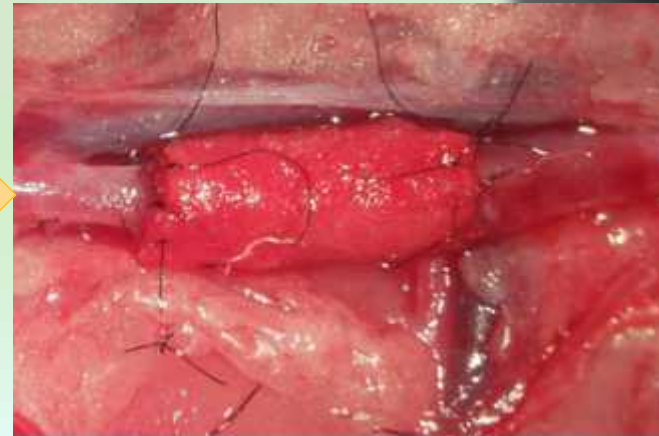
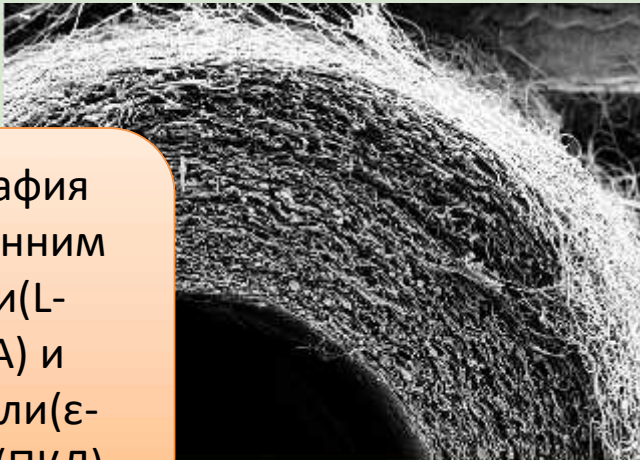
Предотвращение тромбообразования в результате покрытия клетками эндотелия всей поверхности протеза

Продукты разложения участвуют в дальнейшем метаболизме организма

Исследование эффективности использования сосудистых протезов in vivo



Микрофотография
трубки с внутренним
слоем из поли(L-
лактида) (ПЛА) и
внешним из поли(ε-
капролактона) (ПКЛ)



На базе Института приматологии РАН (г. Сочи) в июле 2022 года выполнена по протезированию задней полый вены обезьяны в инфраренальном сегменте с помощью разработанного в лаборатории ПМТиТ биорезорбируемого полимерного имплантата диаметром 4 мм



Операция по протезированию вены, июль 2022



Проверка в декабре 2022 проходимости сосуда (вены) с помощью УЗИ

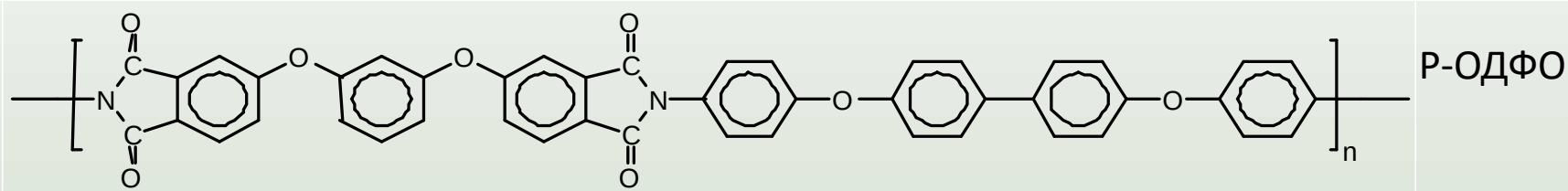


Сосуд проходим!!!



Пациент через полгода после операции чувствует себя хорошо !!!

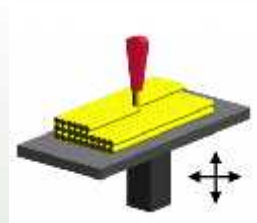
Термопластичный полиимид, разработанный в ИВС РАН



Предпосылки для использования в клинической практике

- Частично-кристаллический плавкий термопластичный полимер
- Биосовместимый
- Химстойкий
- Низкая плотность (1,27 г/см³)
- Механические свойства (модуль упругости 2,5-3 ГПа) близки с человеческой костью (губчатая кость ≈ модуль 1 ГПа)
- Модификация углеродными волокнами и наночастицами для достижения упругих своств, близких к модулю упругости кортикальной кости (12ГПа)

FDM — Моделирование методом послойного наплавления



Условия печати полиимида Р-ОДФО

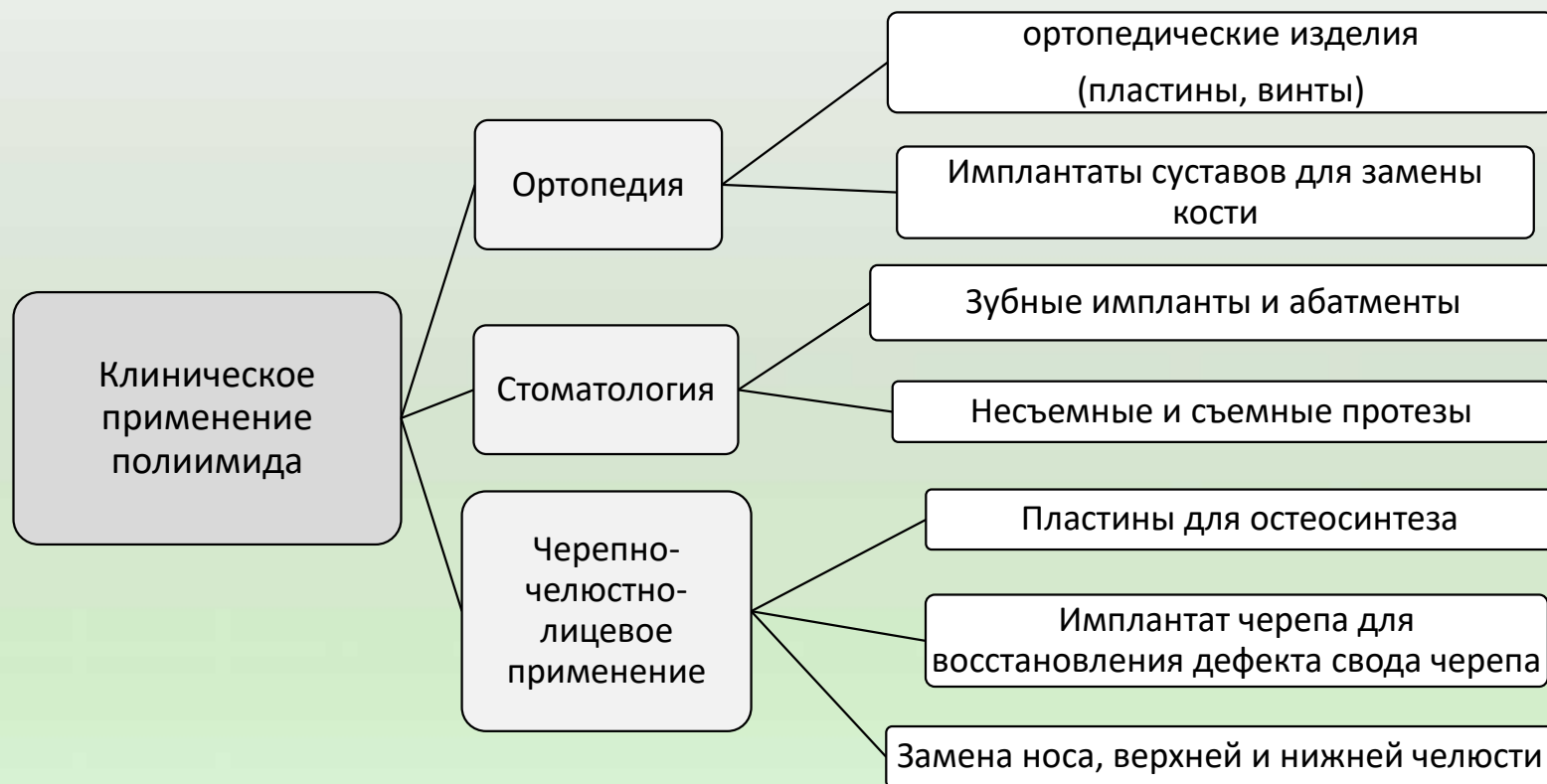
- Температура экструдера: 380°C
- Температура платформы: 180°C
- Скорость печати: 50 мм/с
- Толщина слоев: 0,1 mm
- Угол раstra: $\pm 45^\circ$

Экспериментальная установка для FDM-печати

- ▣ Температура столика до 200°C
- ▣ Температура экструдера до 450°C
- ▣ Температура камеры 200°C



Возможное применения полиимидов в медицине





СПАСИБО!

I. P. Dobrovolskaya, V. E. Yudin,
P. V. Popryadukhin, E. M. Ivan'kova

Polymer Scaffolds for Tissue Engineering



Saint Petersburg
2018

<http://www.lab8ivs.ru/>

