

БИОРЕЗОРБЦИЯ ПОРИСТЫХ 3D-МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

© П. В. Попрядухин,^{1,*} Г. Ю. Юкина,² Д. Н. Суслов,² И. П. Добровольская,³
Е. М. Иванькова,¹ В. Е. Юдин³

¹ Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, 199064,

² Первый С.-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
С.-Петербург, 197376, и

³ С.-Петербургский государственный политехнический университет Петра Великого,
С.-Петербург, 195251;

* электронный адрес: pavel-pn@mail.ru

Методом лиофилизации раствора хитозана получены 3D-материалы с высокой пористостью. Исследование *in vivo* механизма и скорости резорбции полученного материала в мышечной ткани крысы показало, что полная резорбция происходит через 12 мес после имплантации животному, при этом не наблюдается образования рубцовой ткани, не изменяются и не повреждаются окружающие ткани. Гистологический анализ показал, что одновременно с резорбцией хитозана происходит образование коллагеновых волокон и кровеносных сосудов. Это позволяет рекомендовать разработанный пористый материал на основе хитозана в качестве матриц для тканевой инженерии.

Ключевые слова: 3D-пористый материал, хитозан, резорбция, гистологический анализ, коллагеновые волокна, сосуды, тканевая инженерия.

Принятые сокращения: ПХМ — пористая хитозановая матрица.

Интенсивное развитие тканевой инженерии ставит задачи, решение которых направлено на разработку биоинженерных препаратов, состоящих из полимерной матрицы и стволовых или соматических клеток. Такой препарат, помещенный в живой организм, должен функционально заменить утраченный орган или его часть, не вызывая аутоиммунного отторжения. При создании биоинженерных препаратов решается и этическая проблема — отказ от использования донорских органов, необходимых для современной трансплантологии.

Материал матрицы и ее структура должны способствовать адгезии, пролиферации и дифференциации клеток реципиента. Это возможно, если матрица обладает необходимым комплексом свойств: биосовместимостью, отсутствием цитотоксичности, пористостью, уровнем прочности и эластичности, необходимым для манипуляции в жидких средах (Dornish et al., 2001; Gunatillake et al., 2003; Salgado et al., 2004). В качестве материалов для биорезорбируемых препаратов используют такие полимеры, как полилактид, полигликолид, поликапролактон, полисахариды, коллаген и некоторые другие (Dornish et al., 2001). Каждый из них имеет свои преимущества и недостатки.

Одним из наиболее перспективных полимеров, обладающих комплексом необходимых свойств, является хитозан (Khor et al., 2003; Martino et al., 2005; Venkatesan et al., 2010), макромолекулы которого состоят из связанных в случайном порядке β -D-глюкозаминовых и N-ацетил- β -D-глюкозаминовых звеньев. Хитозан обладает способностью к биорезорбции, антибактериальной, антиви-

русной и фунгицидной активностью (Rinaudo et al., 1999; No et al., 2002; Nwe et al., 2009), что делает его перспективным материалом для использования в медицине, биологии, фармацевтике и других областях. Свойства хитозана связаны с его химической структурой: большое число свободных аминогрупп в молекуле хитозана определяет его свойство связывать ионы водорода и приобретать избыточный положительный заряд, поэтому хитозан является прекрасным катионитом.

В организме человека или животного расщепление хитозана происходит до N-ацетил- β -D-глюкозамина и β -D-глюкозамина (Eide et al., 2012), являющихся естественными компонентами межклеточного матрикса, синовиальной жидкости и хрящевой ткани и входящих в состав гликозаминогликана — гиалуроновой кислоты. Из хитозана получают пленки, волокна, а также пористые блочные образцы — губки. При этом используют методы коагуляции раствора полимера в среде осадителя, сушки или сублимации растворителя из твердой фазы и др. (Попрядухин и др., 2011; Yudin et al., 2014; Dobrovolskaya et al., 2015; Ivan'kova et al., 2016)

Для решения задач тканевой инженерии и трансплантологии необходимы трехмерные пористые матрицы — прообразы костной и паренхиматозной тканей. После имплантации тканеинженерного препарата в живой организм одновременно возникают два процесса — клеточный, включающий в себя миграцию клеток в матрицу, их пролиферацию и дифференциацию, и резорбция полимерной матрицы. Успешное тканезамещение возможно лишь при определенном соотношении скоростей этих

процессов. Резорбция матрицы не должна опережать миграцию и пролиферацию клеток. Следует отметить, что деструкция материала матрицы под действием биологической активной среды — сложный процесс, который зависит от многих факторов.

Анализ литературы показал, что скорость резорбции матрицы зависит от молекулярной массы полимера (Gleaddall et al., 2014), пористости материала (Bing et al., 2010), наличия наночастиц или других полимеров в материале матрицы (Hong et al., 2007). В работе Добровольской с соавторами (Dobrovolskaya et al., 2015) исследована резорбция волокон из хитозана в эндомиозии и перимизии длинной мышцы спины крысы и показано, что наличие динамических механических нагрузок, а также интенсивные обменные процессы в эндомиозии мышцы существенно повышают скорость резорбции волокон из хитозана, в то время как их отсутствие способствует инкапсулированию волоконного имплантата. Следует отметить, что ввиду многофакторности процесса биорезорбцию полимерной матрицы крайне сложно моделировать в экспериментах *in vitro*. Поэтому исследование механизма и кинетики резорбции полимерной матрицы *in vivo* очень важно для успешного решения задач тканевой инженерии и трансплантологии.

Нами не обнаружено в литературе данных о резорбции пористых трехмерных матриц на основе хитозана в мышце крысы. Поэтому целью настоящей работы являлось исследование *in vivo* резорбции трехмерных пористых материалов в мышечной ткани крысы.

Материал и методика

Получение материала. Для получения пористых хитозановых матриц (ПХМ) использовали хитозан производства фирмы Sigma-Aldrich Corporation (США) с мол. массой 200 кДа и степенью деацетилирования 80 %. Хитозан растворяли в 2%-ном водном растворе уксусной кислоты при постоянном перемешивании не менее 120 мин, концентрация полимера в растворе составляла 3 %. Полученные растворы фильтровали, затем удаляли воздух при давлении $1 \cdot 10^5$ кПа в течение 3 ч, далее растворы замораживали при -20 °С. Полученные образцы лиофилизировали при -2 °С и давлении 1.6 Па. Лиофилизацию растворов проводили на установке Freeze Dry System (США). Из полученных блочных заготовок трубчатой фрезой вырезали цилиндрические образцы длиной 5 мм и диаметром 1.3 мм с размерами пор от 10 до 300 мкм. Полученные образцы обрабатывали 5%-ным раствором NaOH с целью перевода хитозана из водорастворимой солевой формы в не растворимую в воде основную форму. За счет открытой пористой структуры материал обладает удельной поверхностью, равной $1 \text{ м}^2/\text{г}$, водопоглощение достигает 3000 %. Электронно-микроскопические исследования образцов проводили на сканирующем электронном микроскопе Supra 55VP (Carl Zeiss, Германия) в режиме регистрации вторичных электронов с предварительным нанесением тонкого слоя платины.

Эксперименты на животных. Для экспериментов *in vivo* использовали 35 самцов белых крыс Wistar в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (принципы Европейской конвенции, Страсбург, 1986 г., и Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными, 1996 г.). Масса подо-

пытных животных составляла 200—250 г, возраст — 6 мес. Для изучения резорбции *in vivo* хитозановые цилиндрические образцы стерилизовали в 70%-ном этиловом спирте в течение 1 ч, отмывали в избыточном количестве стерильного физиологического раствора. Животных оперировали под общей анестезией (раствор Zoletil 100 по 0.1 мл и Rometerum 20 мг/мл по 0.0125 мл на 0.1 кг массы животного интраперитонеально). Образцы помещали в большую приводящую мышцу бедра (musculus adductor magnus) на обеих тазовых конечностях, затем послойно ушивали рану асептическими иглами с нитью Prolen 4-0. После наложения наружного шва крыс содержали в индивидуальных клетках. Животные получали свободный доступ к воде и стандартную диету, которая включала в себя комбикорм ПК 120-1.

Морфологическое исследование. Через 1, 2, 6, 12, 24, 36 и 48 нед образцы мышечной ткани с ПХМ фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине на фосфатном буфере (pH 7.4) не менее 24 ч, обезживали в серии этанола возрастающей концентрации и заливали в парафиновые блоки по стандартной гистологической методике. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм, поперечные мышечным волокнам и ПХМ, окрашивали гематоксилином Карацци и эозином (Bio-Optica, Италия). Для визуализации соединительной ткани использовали метод Маллори (Bio-Optica, Италия). Микроскопический анализ проводили под световым микроскопом Leica DM750 (Германия), используя окуляр 10× и объектив с увеличениями 4, 10, 40 и 100×. Фотосъемку выполняли с помощью фотокамеры ICC50 (Leica, Германия).

Морфометрический анализ препаратов мышечной ткани проводили стереологическим методом точечного счета, используя тест-сетку окуляр-микрометра с 25 точками при окуляре 7×, а также объектив 40×. Данные получали при регистрации 1000 точек, которые принимали за 100 %. Исходя из этого оценивали относительный объем, занимаемый лейкоцитами, гигантскими многоядерными клетками, фибробластами, сосудами, коллагеном в порах матрицы и относительный объем структур собственно матрицы. Общую площадь поперечного среза ПХМ определяли с помощью компьютерной программы Видео Тест при использовании окуляра 10× и объектива 40×.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием статистической программы Statistica 7.0 Stat.Soft for Windows. Значимость различий оценивали с помощью U-критерия Манна—Уитни. Различия считали значимыми при $P \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 приведены микрофотографии поверхности поперечного сечения материала на основе хитозана. Видно, что материал имеет пористую структуру с открытой системой пор, которые соединены друг с другом и внешней средой. Такая структура позволяет питательным веществам, продуктам жизнедеятельности, растворенным газам свободно циркулировать в объеме матрицы. Размер пор и незначительная извитость каналов, соединяющих между собой поры, способствуют свободной миграции клеток.

Нами ранее показано, что материалы из хитозана не обладают цито- и генотоксическим воздействием на клетки. В проведенном эксперименте использовали дермаль-

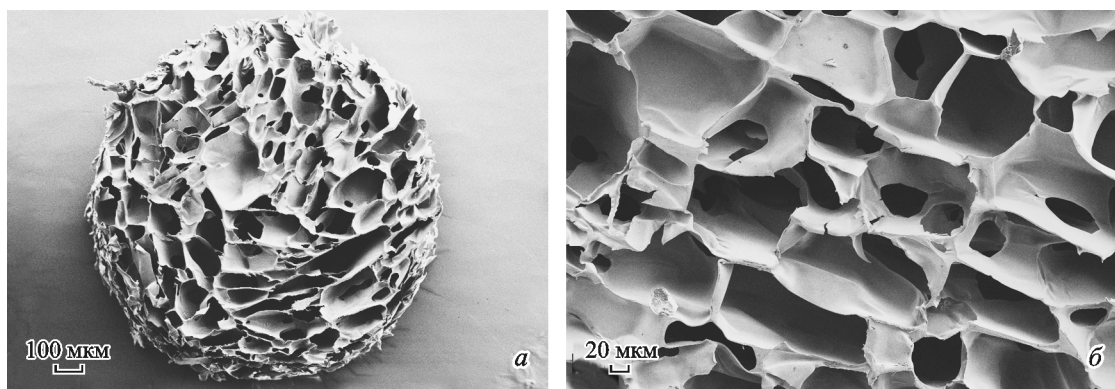


Рис. 1. Микрофотографии поперечного среза губчатых цилиндрических образцов ПХМ при разном увеличении (а, б).

ные фибробласты человека и мезенхимные стволовые клетки жировой ткани человека (Попрядухин и др., 2011). После операции все животные были активны, негативно влияния имплантации материалов на животных не выявлено, о чем свидетельствовало отсутствие воспалительных процессов в зоне имплантации. Далее мы приводим результаты гистологического анализа ПХМ в разные сроки после имплантации.

Через 1 нед после имплантации выявлено умеренно выраженное асептическое воспаление вокруг матрицы с очагами лейкоцитарной инфильтрации с преобладанием сегментоядерных клеток. Матрица окружена полнокровными сосудами, выявляются геморрагические очаги, вокруг имплантата наблюдается незначительный отек. Площадь поперечного среза матрицы составляет $8.16 \cdot 10^5$ мкм² (рис. 2). Относительный объем, занимае-

Относительный объем (%), занимаемый биологическими структурами на поперечном срезе матрицы, на разных сроках после имплантации

Время, нед	Собственно матрица	Коллагеновые волокна	Сосуды	Лейкоциты
1	17.7	0.9	0.1	11.9
2	19.1	3.2	0.5	0.9
6	19.4	3.9 ^a	0.9	1.2
12	24.7	3.4	0.5	1.6
24	24.9	3.7	1.3 ^a	3.9
36	18.7	6.9 ^{a, б}	0.8	4.6

^{a, б} Различия между показателями статистически значимы по сравнению соответственно с 1-й и 2-й нед после имплантации ($P < 0.05$).

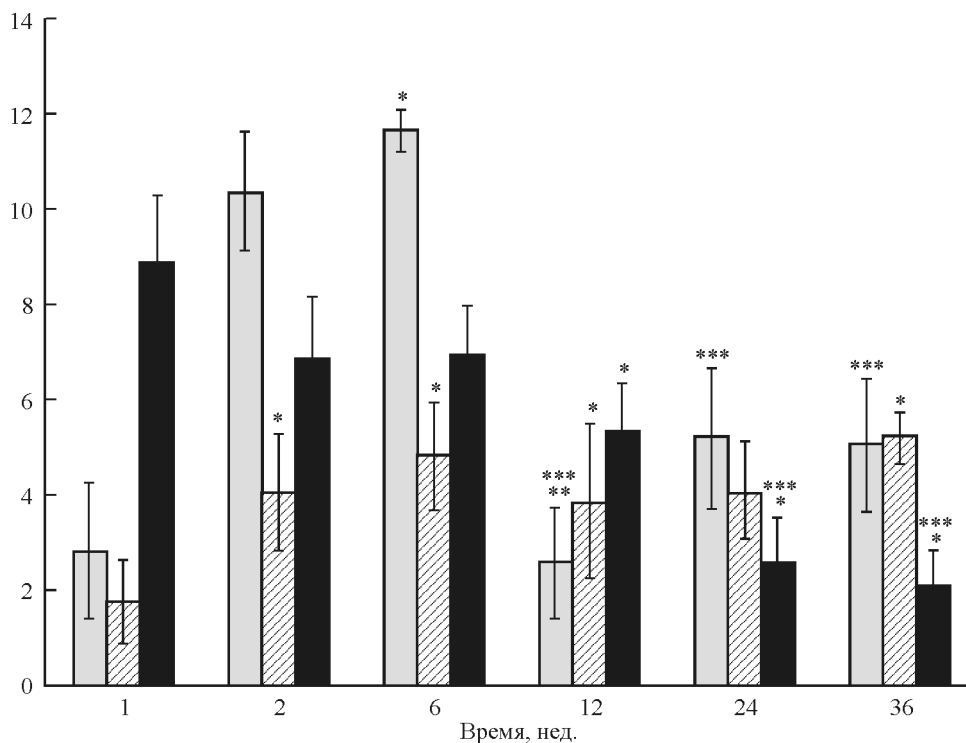


Рис. 2. Динамика изменения площади поперечного сечения ПХМ (черные столбцы, мкм²), относительного объема, занимаемого гигантскими клетками инородных тел (светлые столбцы, %) и фибробластами (полосатые столбцы, %) в течение 1—36 нед после имплантации матрицы в мышцу крысы.

Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки. Разница между показателями статистически значима при $P < 0.05$: по сравнению с 1-й нед (одна звездочка), по сравнению со 2-й нед (две звездочки) и по сравнению с 6-й нед (три звездочки) после имплантации.

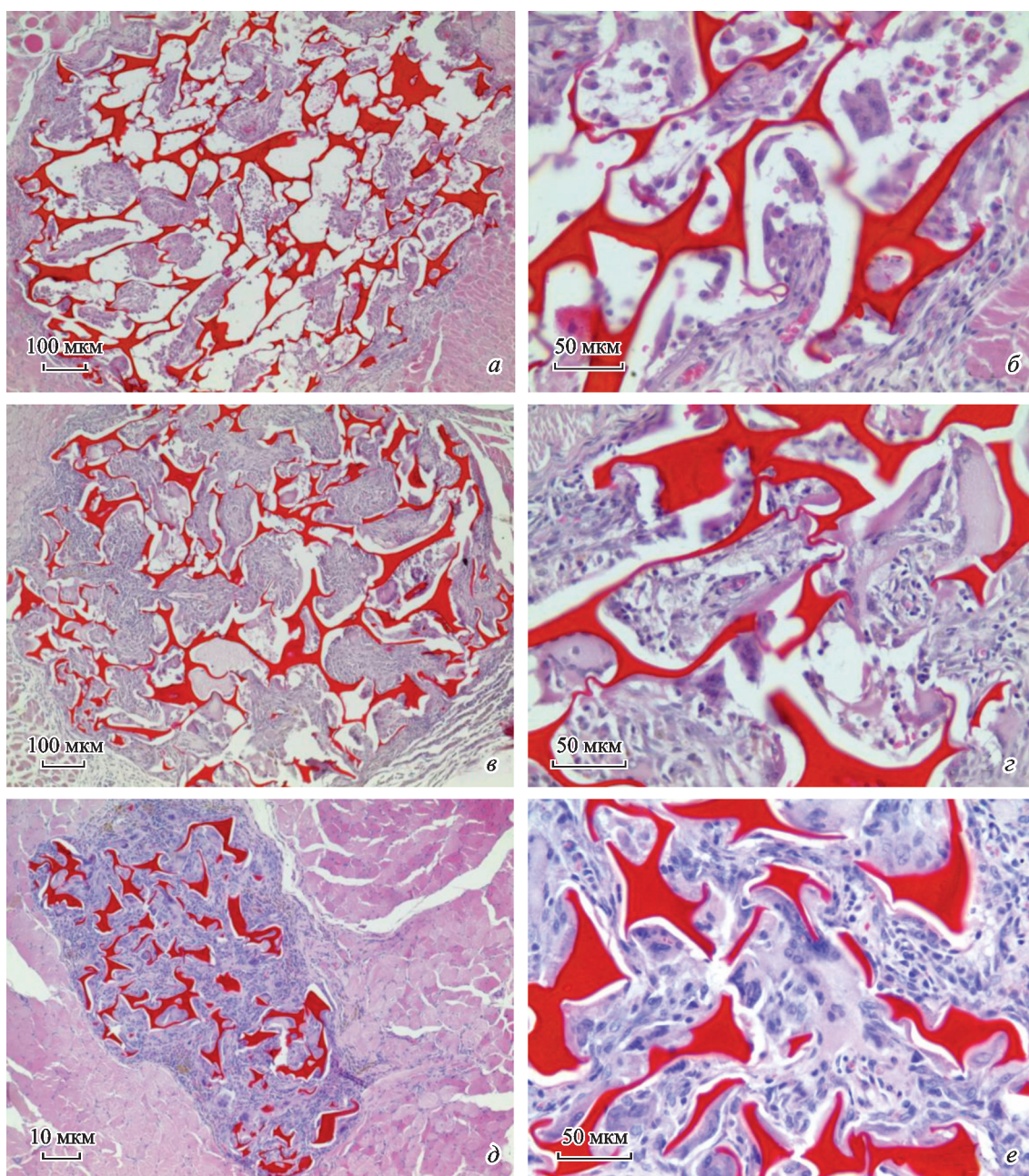


Рис. 3. Гистологические срезы мышечной ткани крысы через 1 (а, б), 2 (в, з) и 6 (д, е) нед экспозиции в ней ПХМ.

а, в, д — об. 10×; б, з, е — об. 40×. Окраска гаматоксилином и эозином.

мый структурами собственно матрицы, составляет 17.7 % (см. таблицу). Вокруг ПХМ выявляются гигантские многоядерные клетки инородных объектов. Некоторые из них проникают в периферические поры матрицы, и их относительный объем составляет 2.8 %. В единичных периферических порах наблюдаются фибробласты и полнокровные сосуды (рис. 3, б). Относительный объем, занимаемый фибробластами, составляет 1.1 %, относительный объем сосудов — 0.1 %. Относительный объем коллагена в периферических порах — 0.9 % (см. таблицу). В центральных порах ПХМ обнаруживаются только фибрин, клеточный детрит и лейкоцитарная инфильтрация с преобладанием сегментоядерных клеток (рис. 3, а). Относительный объем, занимаемый лейкоцитами в центральных порах матрицы, равен 11.9 % (см. таблицу).

Через 2 нед после имплантации вокруг ПХМ отмечается незначительное асептическое воспаление, однако соединительнотканная капсула не формируется, отек не выявляется. Площадь поперечного среза матрицы незначительно уменьшается и составляет 6.88×10^5 мкм², что составляет 84 % от показателя через 1 нед после имплантации (рис. 2). Относительный объем матрицы не изменяется. Поры ПХМ заполнены гигантскими многоядерными клетками (рис. 3, з), их относительный объем увеличивается до 10.3 %, что составляет 364 % от исходных значений. В большинстве образцов формирующаяся соединительная ткань с фибробластами заполняет практически все поры, в одном случае центральные поры остаются заполненными лейкоцитами (рис. 3, в). В некоторых порах наблюдаются полнокров-

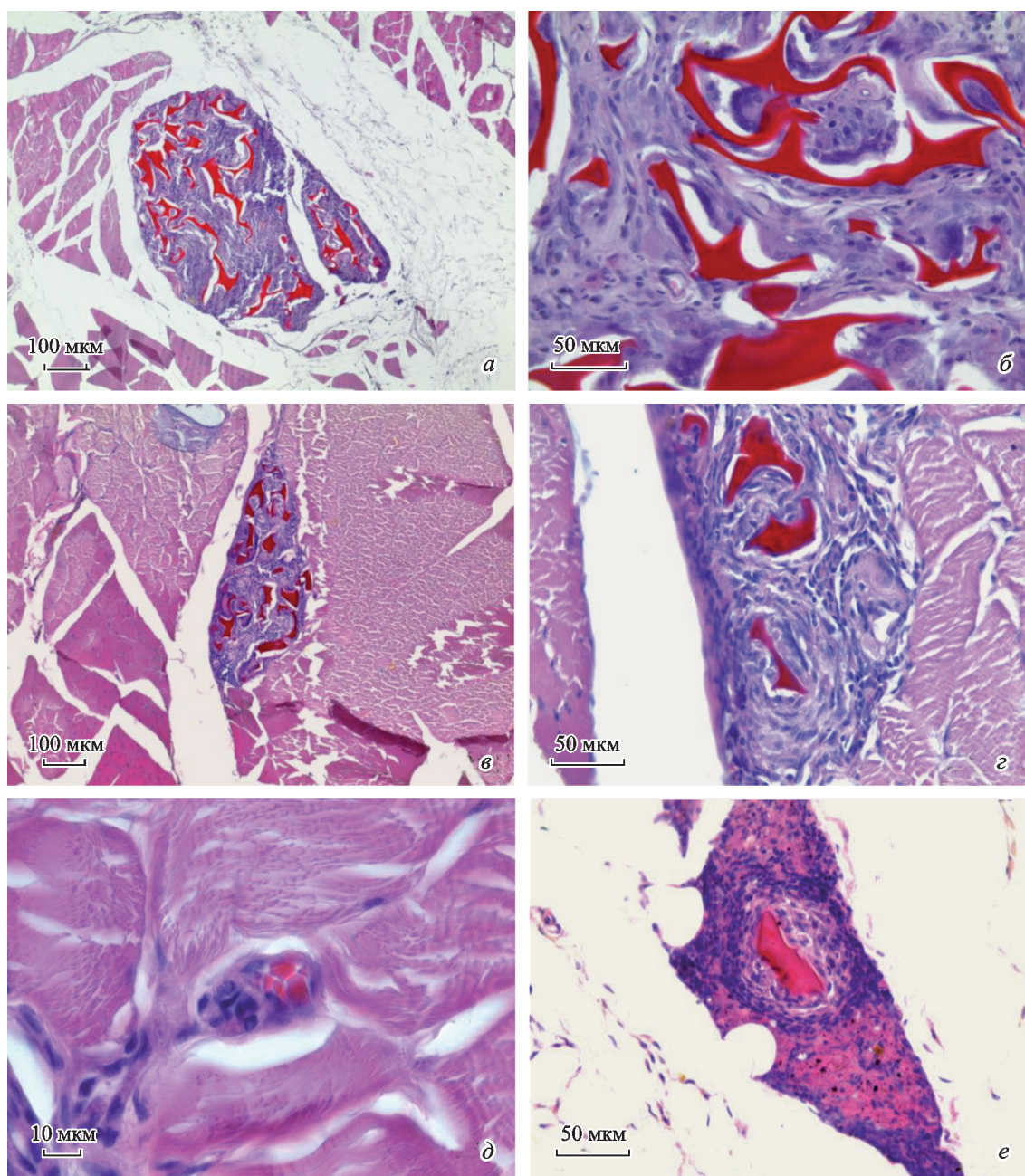


Рис. 4. Гистологические срезы мышечной ткани с ПХМ через 24 (а, б), 36 (в—д) и 48 (е) нед после имплантации *in vivo*. а, в — об. 10×; б, г, е — об. 40×; д — об. 100×. Окраска гаматоксилином и эозином.

ные сосуды. Относительный объем компонентов соединительной ткани, заполняющей ПХМ, увеличивается и составляет 5.1 % для фибробластов, что значительно отличается от показателя через 1 нед после имплантации (прирост составляет 475 % от показателя через 1 нед), 0.5 % для сосудов (400 % от показателя через 1 нед) и 3.2 % для коллагена (344 % от показателя через 1 нед). Как в центральных, так и в периферических порах наблюдаются лейкоциты, в основном лимфоциты. Относительный объем, занимаемый лейкоцитами, снижается до 0.9 %, что составляет 7 % от величины по сравнению с 1-й нед после имплантации (см. таблицу; рис. 2).

Через 6 нед после имплантации вокруг ПХМ соединительнотканная капсула не выявляется (рис. 3, д). Площадь поперечного среза матрицы про-

должает незначительно уменьшаться и составляет 6.38×10^5 мкм² (78 % от показателя после 1-й нед имплантации) (рис. 2). Относительный объем структур собственно матрицы составляет 19.4 %, что значительно не отличается от показателей через 1 и 2 нед после имплантации. Все поры заполнены соединительной тканью с фибробластами и гигантскими многоядерными клетками (рис. 3, е). Во многих порах определяются полнокровные сосуды. Отметим, что относительный объем, занимаемый фибробластами, значительно повышается и составляет 4.9 % (450 % от значения 1-й нед после имплантации). Этому соответствуют значимое повышение относительного объема коллагена — до 3.9 % (419 % от уровня 1-й нед) и повышение относительного объема сосудов до 0.9 % (733 % от уровня 1-й нед). На этом сроке эксперимента относи-

тельный объем, занимаемый гигантскими многоядерными клетками, повышается и значимо отличается от таковых показателей через 1 нед после имплантации. В порах матрицы определяются в основном лимфоциты. Их относительный объем составляет 1.2 % и значимо не отличается от показателя 1-й нед (см. таблицу; рис. 2).

Через 12 нед после имплантации площадь поперечного среза матрицы уменьшается и составляет 5.38×10^5 мкм², что отличается от показателя 1-й нед после имплантации (65.9 %) (рис. 2). Соединительнотканной капсулы вокруг импланта нет. Появляются признаки хронического продуктивного воспаления, наряду с клетками макрофагально-гистиоцитарного ряда выявляются скопления лимфоцитов. Относительный объем, занимаемый структурами собственно матрицы, составляет 24.7 % и не имеет значимых отличий от показателей всех предшествующих сроков эксперимента (139 % относительно 1-й нед). Все поры матрицы заполнены соединительной тканью. Относительный объем, занимаемый фибробластами, составляет 3.8 % и, как и в предшествующие сроки, отличается от показателя через 1 нед после имплантации (355 %). Количество многоядерных гигантских клеток резко снижается, достигая 2.6 %, и отличается от показателей через 2 и 6 нед после имплантации. Относительный объем, занимаемый коллагеновыми волокнами, сосудами и лейкоцитами, значимо не изменяется (см. таблицу; рис. 2). Однако стоит отметить, что по сравнению с ранними сроками эксперимента преобладают лимфоциты, в некоторых порах они формируют небольшие скопления.

Через 24 нед после имплантации ПХМ площадь поперечного среза матрицы уменьшается и составляет 2.64×10^5 мкм², что отличается от показателей через 1 и 6 нед после имплантации (уменьшение на 32.3 % от показателя 1-й нед) (рис. 2). Соединительнотканная капсула вокруг имплантата не определяется (рис. 4, а), сохраняются признаки хронического продуктивного воспаления. Относительный объем, занимаемый структурами собственно матрицы, не изменяется. Во всех порах матрицы находятся фибробласты и лейкоциты с преобладанием лимфоцитов, их относительный объем значимо не изменяется по сравнению с показателями на ранних сроках эксперимента (рис. 4, б). Объем многоядерных гигантских клеток возрастает до 5.3 %, отличаясь от значений через 6 нед после имплантации (прирост составляет 187 % по сравнению с 1-й нед). Относительный объем, занимаемый коллагеновыми волокнами, также не изменяется, в то время как относительный объем сосудов возрастает до 1.3 %, значимо отличаясь от показателей 1-й нед (см. таблицу; рис. 2).

Через 36 нед после имплантации (рис. 4, в—д) площадь поперечного среза матрицы продолжает уменьшаться и достигает 2.14×10^5 мкм², что отличается от показателей через 1 и 6 нед. Соединительнотканной капсулы вокруг ПХМ нет (рис. 4, в, з). Относительный объем, занимаемый структурами собственно матрицы, не имеет значимых отличий от показателей ранних сроков эксперимента. Относительный объем фибробластов и многоядерных гигантских клеток остается на прежнем уровне, а объем коллагеновых волокон возрастает до 6.9 %, отличаясь от показателя через 1 и 2 нед после имплантации (734 % по сравнению с 1-й нед). Относительный объем, занимаемый сосудами и лейкоцитами, значимо не изменяется по сравнению с ранними сроками эксперимента (см. таблицу; рис. 2).

Через 48 нед после имплантации в полученных образцах ткани только в 1 из 5 обнаружены фрагменты ПХМ (рис. 4, е). Площадь поперечного среза матрицы уменьшается до 1.71×10^5 мкм². Соединительнотканная капсула не выявляется, вокруг фрагментов выявляются собственно структуры матрицы, не связанные между собой, наблюдаются признаки хронического асептического продуктивного воспаления. Фрагменты ПХМ непосредственно окружены макрофагами и гистиоцитами, затем идет лимфоцитарный вал, и на периферии располагаются фибробласты.

Таким образом показано, что полная биорезорбция ПХМ в мышечной ткани происходит через 48 нед после имплантации, при этом нет образования рубцовой ткани, не возникает изменений и повреждений окружающих тканей. В течение всего срока эксперимента матрица продемонстрировала высокую формоустойчивость и сохраняла сквозную пористость, что способствовало прорастанию кровеносных сосудов и свободной миграции клеток во всем объеме матрицы. Резорбция матрицы происходила синхронно с заполнением ее клеточными структурами. Результаты исследования позволяют рекомендовать ПХМ для получения биоинженерных препаратов с дальнейшим применением в тканевой инженерии и трансплантологии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-33-00003).

Список литературы

- Попрядухин П. В., Добровольская И. П., Юдин В. Е., Иванькова Е. М., Смолянинов А. Б., Смирнова Н. В. 2011. Композитные материалы на основе хитозана и монтмориллонита: перспективы использования в качестве матриц для культивирования стволовых и регенеративных клеток. Цитология. 53 (12): 952—958. (Popryadukhin P. V., Dobrovolskaya I. P., Yudin V. E., Ivan'kova E. M., Smolyaninov A. B., Smirnova N. V. 2012. Composite materials based on chitosan and montmorillonite: prospects for use as a matrix for cultivation of stem and regenerative cells. Cell Tissue Biol. (Tsitologiya). 6: 82—88.)
- Bing Y., Xing Y. L., Shuai S., Xiang Y. K., Gang G., Mei J. H., Feng L., Yu Q. W., Xia Z., Zhi Y. Q. 2010. Preparation and characterization of a novel chitosan scaffold. Carbohydrate Polymers. 80: 860—865.
- Dobrovolskaya I. P., Yudin V. E., Popryadukhin P. V., Dresvyanina E. N., Yudenko A. N., Ivan'kova E. M. 2015. In vivo studies of chitosan fiber resorption. J. Applied Cosmetol. 33: 81—87.
- Dornish M., Kaplan D., Skaugrud O. 2001. Standards and guidelines for biopolymers in tissue-engineered medical products. Academy Sci. 944: 388—397.
- Eide K. B., Norberg A. L., Heggset E. B., Lindbom A. R., Varum K. M., Eijsink V. G. H., Sorlie M. 2012. Human chitotriosidase-catalyzed hydrolysis of chitosan. Biochemistry. 51: 487—495.
- Gleadall A., Pan J., Kruft M.-A., Kellomäki M. 2014. Degradation mechanisms of bioresorbable polyesters. Part 2. Effects of initial molecular weight and residual monomer. Acta Biomater. 10: 2233—2240.
- Gunatillake P. A., Adhikari R. 2003. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. Eur. Cells Materials. 20: 1—16.
- Hong Z., Jun P. Z., Hong G., Kang De Y. 2007. In vitro biodegradation and biocompatibility of gelatin/montmorillonite-chitosan intercalated nanocomposite. J. Mater. Sci. Mater. Med. 18: 951—957.
- Ivan'kova E. M., Dobrovolskaya I. P., Popryadukhin P. V., Kryukov A., Yudin V. E., Morganti P. 2016. In situ cryo-SEM investigation of porous structure formation of chitosan sponges. Polymer Testing. 52: 41—45.

Khor E., Lim L. Y. 2003. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials.* 24 : 2339—2349.

Martino Di A., Sittinger M., Risbud M. V. 2005. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials.* 26 : 5983—5990.

No H. K., Park N. Y., Lee S. H., Meyers S. P. 2002. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int. J. Food Microbiol.* 74 : 65—72.

Nwe N., Furuike T., Tamura H. 2009. The mechanical and biological properties of chitosan scaffolds for tissue regeneration templates are significantly enhanced by chitosan from gongronellabutleri. *Materials.* 2 : 374—398.

Rinaudo M., Pavlov G., Desbrieres J. 1999. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer.* 40 : 7029—7032.

Salgado A. J., Coutinho O. P., Reis R. L. 2004. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromol. Biosci.* 4 : 743—765.

Venkatesan J., Kim S. K. 2010. Chitosan composites for bone tissue engineering. *Marine Drugs.* 8 : 2252—2266.

Yudin V. E., Dobrovolskaya I. P., Neelov I. M., Dresvyanina E. N., Popryadukhin P. V., Ivan'kova E. M., Elokhoyskii V. Yu., Kasatkin I. A., Okrugin B. M., Morganti P. 2014. Wet spinning of fibers made of chitosan and chitin nanofibrils. *Carbohydrate Polymers.* 108 : 176—182.

Поступила 25 IV 2016

BIORESORPTION OF POROUS 3D-MATERIALS BASED ON CHITOSAN

P. V. Popryadukhin,^{1,} G. Yu. Yukina,² D. N. Suslov,² I. P. Dobrovolskaya,³
E. M. Ivankova,¹ V. E. Yudin³*

¹ Institute of Macromolecular Compounds RAS, St. Petersburg, 199064,

² I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, 197376, and

³ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, 195251;

* e-mail: pavel-pn@mail.ru

3D-materials with high porosity were prepared by the method of lyophilization of chitosan solution. *In vivo* investigation of the mechanism and resorption rate of the resulting material in the muscle tissue showed complete resorption occurring in 12 months after implantation in an animal. The formation of scar tissue was not observed; there was no change and damage of the surrounding tissue. Histological analysis showed that chitosan resorption occurred simultaneously with the formation of collagen fibers and blood vessels. This allows us to recommend such porous material based on chitosan as a matrix for tissue engineering.

Key words: 3D porous material, chitosan, resorption, histological analysis, collagen fibers, blood vessels, tissue engineering.