

БИОРЕЗОРБЦИЯ ПОРИСТЫХ 3D-МАТРИЦ НА ОСНОВЕ КОЛЛАГЕНА В ПЕЧЕНИ И МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

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

¹ Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, 199004,

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

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

* электронный адрес: pavel-pn@mail.ru

Методом лиофилизации раствора коллагена получены высокопористые 3D-матрицы цилиндрической формы (диаметры 1.3 и 3.0 мм). Исследование *in vivo* механизма и скорости резорбции полученного материала показало, что полная резорбция матрицы происходит через 6 нед после имплантации животному в ткань печени и через 3 нед после имплантации в мышечную ткань. При этом не изменяются и не повреждаются окружающие ткани. Гистологический анализ выявил, что одновременно с резорбцией коллагена матрицы формируются соединительная ткань и кровеносные сосуды. Это позволяет рекомендовать разработанный пористый материал на основе коллагена в качестве матриц для тканевой инженерии и клеточной трансплантологии.

Ключевые слова: 3D-пористый материал, коллаген, резорбция, тканевая инженерия, клеточная трансплантология, печень, мышечная ткань, гистологический анализ.

Принятые сокращения: ПКМ — пористая коллагеновая матрица.

Современная тканевая инженерия, регенеративная медицина и клеточная трансплантология нуждаются в материалах, выполняющих роль каркасов, носителей клеточных культур и биологически активных веществ, для дальнейшей их имплантации в живой организм с целью регенерации поврежденных органов и тканей и восстановления утраченных ими функций.

При этом материалы должны быть биосовместимы, нетоксичны, иметь уровень прочности и эластичности, необходимый для манипуляции с ними в жидких средах. Также они должны быть способны к биорезорбции в организме, при этом продукты биорезорбции не должны оказывать раздражающего или токсического действия (Dornish et al., 2001; Gunatillake et al., 2003; Salgado et al., 2004; Dobrovolskaya et al., 2015).

Наиболее перспективными в настоящее время являются материалы на основе биосовместимых, биорезорбируемых полимеров, таких как хитозан, коллаген, альгинат, полилактиды, полигликолид, полигидроксикапроат и полигидроксиполлактат (Dornish et al., 2001; Martino et al., 2005; Kohane et al., 2008; Armentano et al., 2010). Из этих полимеров получают пленочные, трубчатые, губчатые, волоконные и нановолоконные матрицы, которые используют для создания биоинженерных препаратов, заселяя их стволовыми или соматическими клетками, пропитывая биологически активными веществами (Sachlos et al., 2003; Ma et al., 2005; Добровольская и др., 2016; Ivan'kova et al., 2016). Скорость и механизм биорезорб-

ции таких матриц будут зависеть от вида и молекулярной массы полимера, из которого они изготовлены, размеров, геометрической формы, пористости матрицы, а также от локализации в организме реципиента (Causa et al., 2007; Bing et al., 2010; Gleadall et al., 2014; Khan et al., 2015).

Для решения задач тканевой инженерии и трансплантологии, в частности, необходимы трехмерные пористые матрицы — прообразы костной ткани и тканей паренхиматозных органов. После имплантации полученного на их основе тканеинженерного препарата в живой организм одновременно начинаются процессы двух типов: клеточные процессы, включающие в себя миграцию клеток в матрицу, их пролиферацию и дифференцировку, а также резорбция полимерной матрицы. Успешное тканезамещение возможно лишь при определенном соотношении скоростей этих процессов. Следует отметить, что деструкция материала матрицы под действием биологической активной среды — это сложный, комплексный процесс, который зависит от многих факторов (Whu et al., 2013; Попрядухин и др., 2016).

Одним из наиболее перспективных полимеров для получения матриц является коллаген (Parenteau-Bareil et al., 2010). В настоящее время он широко применяется в медицине для изготовления гемостатических, ранозаживляющих и противоспаечных препаратов.

Коллаген — это фибриллярный белок, составляющий основу соединительной ткани организма человека, который входит в состав сухожилий, связок, хрящей, костей,

дермы, а также других органов и тканей. В организме коллаген обеспечивает прочность и эластичность соединительной ткани, обладает структурообразующими и каркасными свойствами. Молекула коллагена представляет собой правозакрученную спираль (тропоколлаген), состоящую из трех α -цепей, один виток спирали α -цепи содержит 3 аминокислотных остатка, мол. масса таких молекул может достигать 300 кДа, тропоколлаген является структурной единицей коллагена. Тропоколлагены в свою очередь объединяются в фибриллы, соединенные между собой в том числе и ковалентными связями, что способствует формированию сложноупорядоченной стабильной структуры. В ткани коллагеновые фибриллы, объединенные между собой и с другими структурными белками, формируют пучки — коллагеновые волокна, которые имеют свои особенности структуры и состава в зависимости от типа ткани и органа (Berisio et al., 2002; Shoulders et al., 2009; Chattopadhyay et al., 2014).

На данный момент известно 29 типов коллагена, отличающихся друг от друга аминокислотной последовательностью, структурой тропоколлагена и фибрилл. Однако большую часть всех коллагенов в организме человека составляют коллагены I—IV типов (Parenteau-Bareil et al., 2010).

Разрушение коллагена в организме происходит под действием ферментов коллагеназ, которые расщепляют пептидные связи в определенных участках молекулы коллагена (Соловьева, 1998). В норме выработка коллагеназ уравновешена выработкой их ингибиторов (тканевых ингибиторов металлопротеаз) (Yamamoto et al., 1994).

Целью работы являлась разработка пористой трехмерной матрицы на основе коллагена для решения задач клеточной трансплантологии и тканевой инженерии. Исследованы скорость и механизм биорезорбции этой матрицы в мышечной ткани и ткани печени крысы, изучены реакции окружающих тканей на имплантацию матрицы, а также отдаленные последствия имплантации и резорбции.

Материал и методика

Получение материала. Для получения пористых коллагеновых матриц (ПКМ) использовали коллаген из кожи телят (Sigma-Aldrich, США). Коллаген растворяли в 2%-ном водном растворе уксусной кислоты при постоянном перемешивании не менее 120 мин, концентрация коллагена 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°C 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 диаметрами 1.3 и 3.0 мм с размерами пор от 10 до 200 мкм. Полученные образцы переводили в нерастворимую в водных средах форму путем выдерживания в парах 4%-ного раствора формальдегида на фосфатном буфере (pH 7.4) в течение 1 ч.

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 20 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 подопытных животных составляла 200—250 г, возраст — 6 мес.

Для изучения резорбции *in vivo* коллагеновые цилиндрические образцы, стерилизовали в 70%-ном этиловом спирте в течение 1 ч и отмывали в избыточном количестве стерильного физиологического раствора. Животных оперировали под общей анестезией (растворы Zoletil 100 — 0.1 мл и Rometarium 20 мг/мл — 0.0125 мл на 0.1 кг массы животного, интраперитонеально). Образцы диаметром 1.3 мм помещали в большую приводящую мышцу бедра (musculus adductor magnus) на обеих тазовых конечностях. Образцы диаметром 3 мм помещали тем же животным в левую боковую долю печени, в предварительно полученное трубчатой фрезой несквозное цилиндрическое углубление. Затем раны конечностей и переднюю брюшную стенку послойно ушивали асептическими иглами с нитью Prolen 4-0.

После наложения наружных швов крысы содержали в индивидуальных клетках. Животные получали свободный доступ к воде и стандартную диету, которая включала в себя комбикорм ПК 120-1.

После операции все животные были активны, негативного влияния имплантации материалов на животных не выявлено, о чем свидетельствовало отсутствие воспалительных процессов в зоне имплантации.

Морфологическое исследование. Через 1, 2, 3, 6 и 20 нед образцы мышечной ткани с ПКМ и через 1, 2, 6 и 20 нед образцы печени с ПКМ фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине на фосфатном буфере (pH 7.4) не менее 24 ч, обезживали в серии растворов этанола возрастающей концентрации и заключали в парафиновые блоки по стандартной гистологической методике. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм, поперечные мышечным волокнам, и ПКМ, поперечные ПКМ в печени, готовили с помощью микротомы Accu-Cut SRT 200 (Sakura, Япония), окрашивали гематоксилином Майера и эозином (Bio-Optica, Италия). Для визуализации соединительной ткани использовали метод Маллори (Bio-Optica, Италия). Для иммуногистохимического выявления макрофагов и моноцитов (клеток системы мононуклеарных фагоцитов) применяли первичные моноклональные мышиные антитела Anti-CD68 (ab 31630) (Abcam, Великобритания) в разведении 1 : 1000 при комнатной температуре, экспозиция 1 ч. Для выявления связавшихся первичных антител использовали мультимерную безбио-тиновую систему детекции (D&A, Reveal-Biotin-Free Polyvalent DAB, Spring Bioscience Corporation, США). Препараты докрашивали гематоксилином Майера (Bio-Optica, Италия). Микроскопический анализ проводили на световом микроскопе Leica DM750 (Германия) с использованием ок. $10\times$ и об. 4, 10, 40 и $100\times$. Запись цифровых изображений выполняли с помощью фотокамеры ICC50 (Leica, Германия).

Результаты и обсуждение

На рис. 1 приведены микрофотографии поверхности поперечного сечения ПКМ. Видно, что материал имеет пористую структуру с открытой системой пор, которые

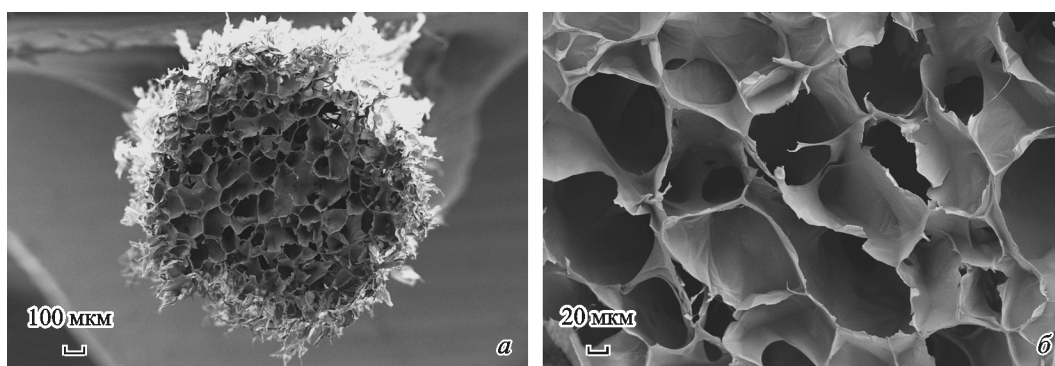


Рис. 1. Микрофотографии поперечного среза губчатых цилиндрических образцов пористой коллагеновой матрицы (ПКМ) диаметром 1.3 мм при разном увеличении.

Сканирующая электронная микроскопия.

соединены друг с другом и внешней средой. Такая структура позволяет питательным веществам, продуктам жизнедеятельности и растворенным газам свободно циркулировать в объеме матрицы. Размер пор и незначительная извитость каналов, соединяющих между собой поры, способствуют свободной миграции клеток.

Ранее была показана перспективность применения 3D-материалов со сходной структурой для тканевой инженерии и клеточной трансплантологии (Cheung et al., 2007; Dhandayuthapani et al., 2011; Попрядухин и др., 2016).

Гистологическое исследование ПКМ через 1 нед экспозиции. На рис. 2, а показана печень с имплантированной в нее ПКМ через 1 нед экспозиции, матрица полностью погружена в ткани, снаружи покрыта тонким слоем соединительной ткани. Цвет, форма и размеры печени не изменены.

Гистологическое исследование выявило умеренно выраженное асептическое воспаление вокруг ПКМ. На поперечном срезе матрица имеет округлую форму (рис. 2, б). Вокруг матрицы формируется соединительнотканная капсула с небольшим количеством тонких коллагеновых волокон (рис. 2, в). В соединительнотканной капсуле преобладают CD68⁺-клетки, определяется небольшое количество фибробластов и гигантских многоядерных клеток инородных тел (рис. 2, г). Периферические ячейки матрицы полностью заполнены многочисленными CD68⁺-клетками и единичными гигантскими многоядерными клетками инородных тел (рис. 2, д, е). Центральные ячейки матрицы содержат клеточный детрит, эритроциты и единичные CD68⁺-клетки. В гепатоцитах, окружающих матрицу, признаков воспалительной реакции и дистрофических изменений не наблюдается.

Морфологический анализ ПКМ в мышцах через 1 нед после имплантации показал, что на поперечном срезе матрица имеет округлую форму и окружена тонкой соединительнотканной капсулой, в которой преобладают CD68⁺-клетки, встречаются единичные гигантские многоядерные клетки инородных тел и единичные фибробласты. В периферических и центральных ячейках матрицы находятся CD68⁺-клетки. Признаков воспалительной реакции вокруг ПКМ не выявляется (рис. 3, а, б).

Гистологическое исследование ПКМ через 2 нед экспозиции. Через 2 нед после имплантации в печень матрица на поперечном срезе визуально имеет меньшую площадь, вытянутую форму и сжата по сравнению с предыдущим сроком (рис. 4, а). ПКМ окру-

жена тонкой соединительнотканной капсулой с небольшим количеством молодых коллагеновых волокон и единичными сосудами. Клеточный состав капсулы представлен фибробластами, фиброцитами, единичными гигантскими многоядерными клетками инородных тел. Количество CD68⁺-клеток в капсуле на данном сроке эксперимента, по результатам визуальных наблюдений, значительно меньше по сравнению с экспериментальными образцами на предыдущем сроке. Как периферические, так и центральные ячейки матрицы содержат CD68⁺-клетки (рис. 4, б, в). Фибробласты выявляются только в некоторых периферических ячейках ПКМ, и в этих же ячейках наблюдаются тонкие коллагеновые волокна и единичные сосуды. Во всех ячейках матрицы видны апоптотные тела (рис. 4, г). Вокруг матрицы гепатоциты без признаков дистрофических изменений.

При макроскопическом исследовании мышечная ткань с ПКМ через 2 нед экспозиции выглядит рыхлой и легко расслаивается на отдельные пучки волокон; это, возможно, связано с повышением активности коллагеназ, продуцируемых макрофагами в зоне имплантации, и вследствие этого с уменьшением количества нативного коллагена в соединительной ткани эндомизия и перимизия мышц. В ранее проведенной работе по имплантации хитозановой пористой матрицы в мышцу крысы подобного эффекта не выявлено (Попрядухин и др., 2016).

При гистологическом исследовании ПКМ в мышцах через 2 нед экспозиции после имплантации площадь поперечного сечения матрицы визуально значительно меньше по сравнению с площадью матрицы через 1 нед после имплантации (рис. 5, а). Матрица имеет неправильную форму, и вокруг нее выявляется тонкая капсула с фибробластами, фиброцитами, CD68⁺-клетками, единичными гигантскими многоядерными клетками инородных тел, без сосудов. Ячейки матрицы спавшиеся, очевидно вследствие давления мышечных волокон и низких каркасных свойств частично резорбированной матрицы. Во всех ячейках ПКМ определяются CD68⁺-клетки. Признаков воспалительной реакции вокруг ПКМ не выявлено (рис. 5, б—г).

Гистологическое исследование ПКМ через 3 нед экспозиции в мышечной ткани. При гистологическом исследовании ПКМ в мышцах через 3 нед экспозиции после имплантации волокна располагаются рыхло, фрагменты матрицы не выявляются. На месте матрицы находится оформленная соединительная ткань с фибробластами, CD68⁺-клетками и единичными

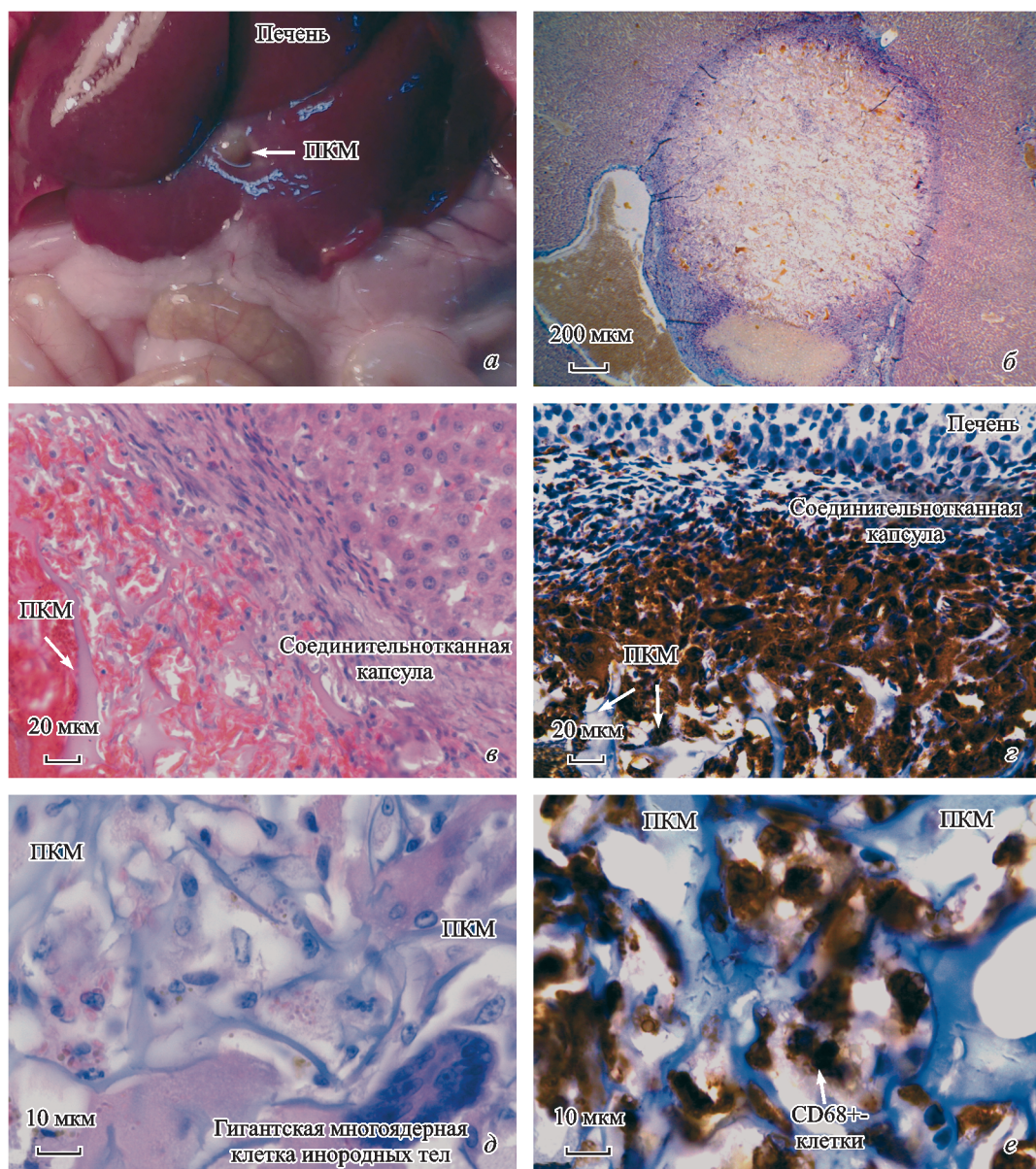


Рис. 2. Печень крысы (а) и гистологические срезы ткани печени крысы через 1 нед после имплантации пористой коллагеновой матрицы (ПКМ).

б — окраска по методу Маллори, об. 4×; в, д — окраска гематоксилином и эозином, об. 40× (в), 100× (д); з, е — иммуногистохимическое выявление CD68+-клеток, об. 40× (з), 100× (е).

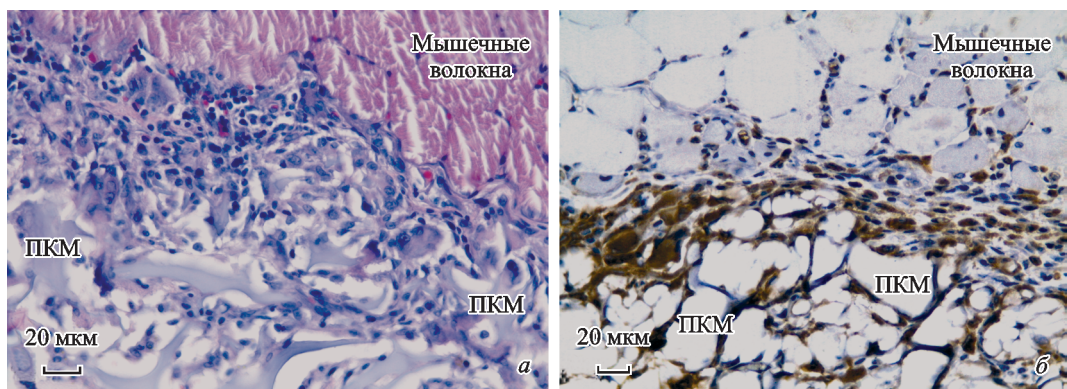


Рис. 3. Гистологические срезы мышечной ткани крысы через 1 нед после имплантации пористой коллагеновой матрицы (ПКМ).

а — окраска гематоксилином и эозином, об. 40×; б — иммуногистохимическое выявление CD68+-клеток, об. 40×.

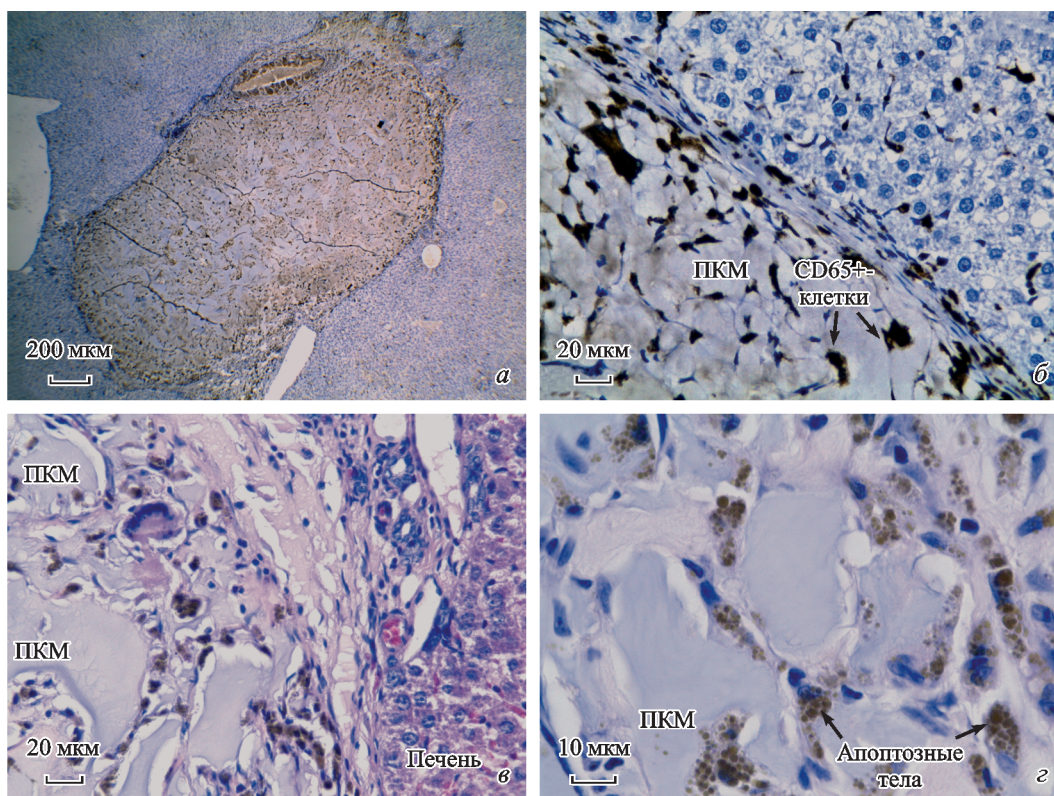


Рис. 4. Гистологические срезы ткани печени крысы через 2 нед после имплантации пористой коллагеновой матрицы (ПКМ).
а, б, г — иммуногистохимическое выявление CD65+-клеток, об. 4× (а), 40× (б), 100× (г); д — окраска гематоксилином и эозином, об. 40×.

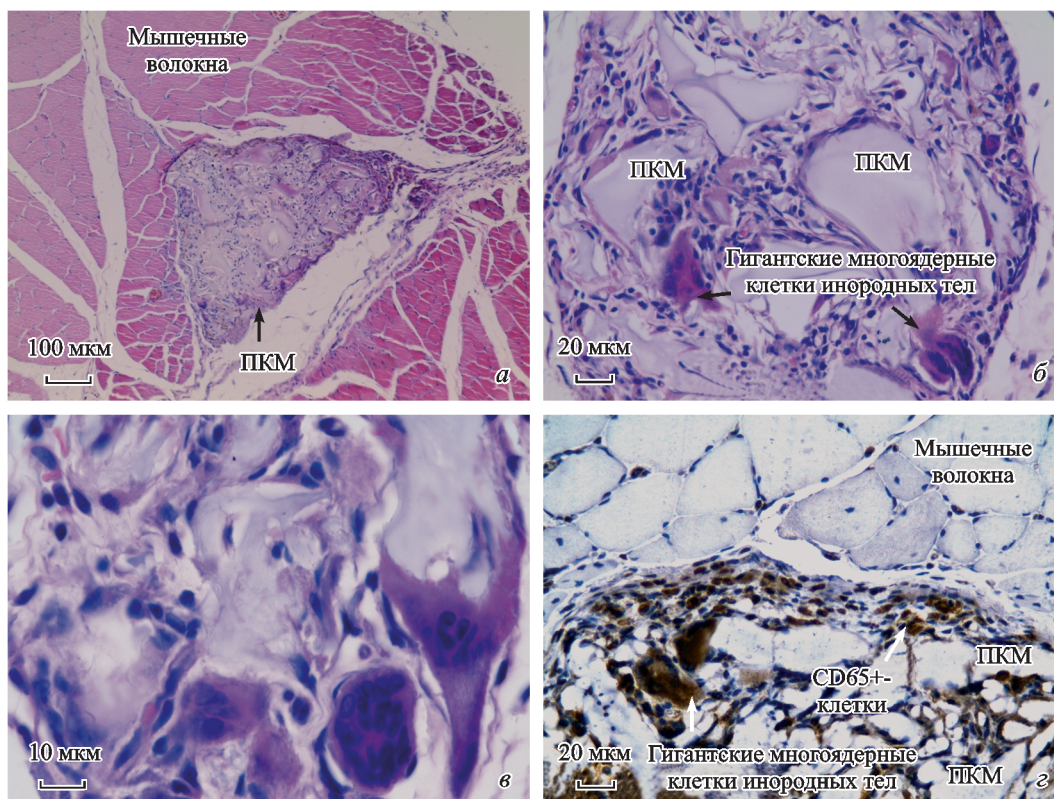


Рис. 5. Гистологические срезы мышечной ткани крысы через 2 нед после имплантации пористой коллагеновой матрицы (ПКМ).
а—д — окраска гематоксилином и эозином, об. 10× (а), 40× (б), 100× (в); г — иммуногистохимическое выявление CD65+-клеток, об. 40×.

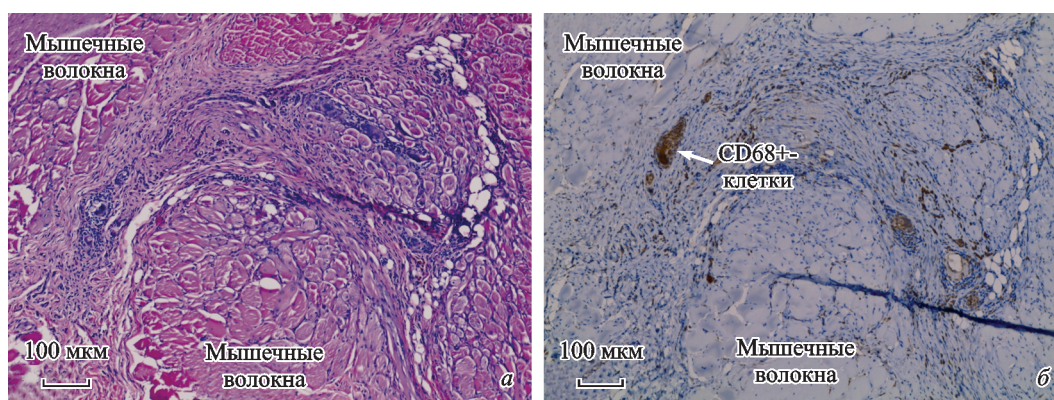


Рис. 6. Гистологические срезы мышечной ткани крысы через 3 нед после имплантации пористой коллагеновой матрицы (ПКМ). *а* — окраска гематоксилином и эозином, об. 10×; *б* — иммуногистохимическое выявление CD68+-клеток, об. 10×.

гигантскими многоядерными клетками инородных тел. Признаков воспалительной реакции в прилежащих тканях не выявляется (рис. 6, *а*, *б*).

Гистологическое исследование ПКМ через 6 нед экспозиции. Через 6 нед эксперимента в печени на месте ПКМ выявляется соединительная ткань с оформленными коллагеновыми волокнами, окружающими единичные некротические фрагменты коллагеновой матрицы (рис. 7, *а*). Клеточный состав представлен фибробластами, фиброцитами, CD68+-клетками, гигантскими многоядерными клетками инородных тел и незначительным количеством лимфоцитов. Апоптотические тела не выявляются. Сосуды, пронизывающие соединительную ткань,

расширены и полнокровны (рис. 7, *б*—*г*). В гепатоцитах, окружающих матрицу, дистрофических изменений не наблюдается.

В мышцах на данном сроке эксперимента при макроскопическом исследовании определяется рыхлость ткани, как и на предыдущем сроке эксперимента. Методами морфологического анализа фрагменты ПКМ не выявляются. На месте матрицы находится оформленная соединительная ткань с фибробластами и CD68+-клетками.

Гистологическое исследование ПКМ через 20 нед экспозиции. Через 20 нед после имплантации ПКМ в печень цвет, форма и размеры печени в целом не изменены, спайочный процесс не выявлен, на месте

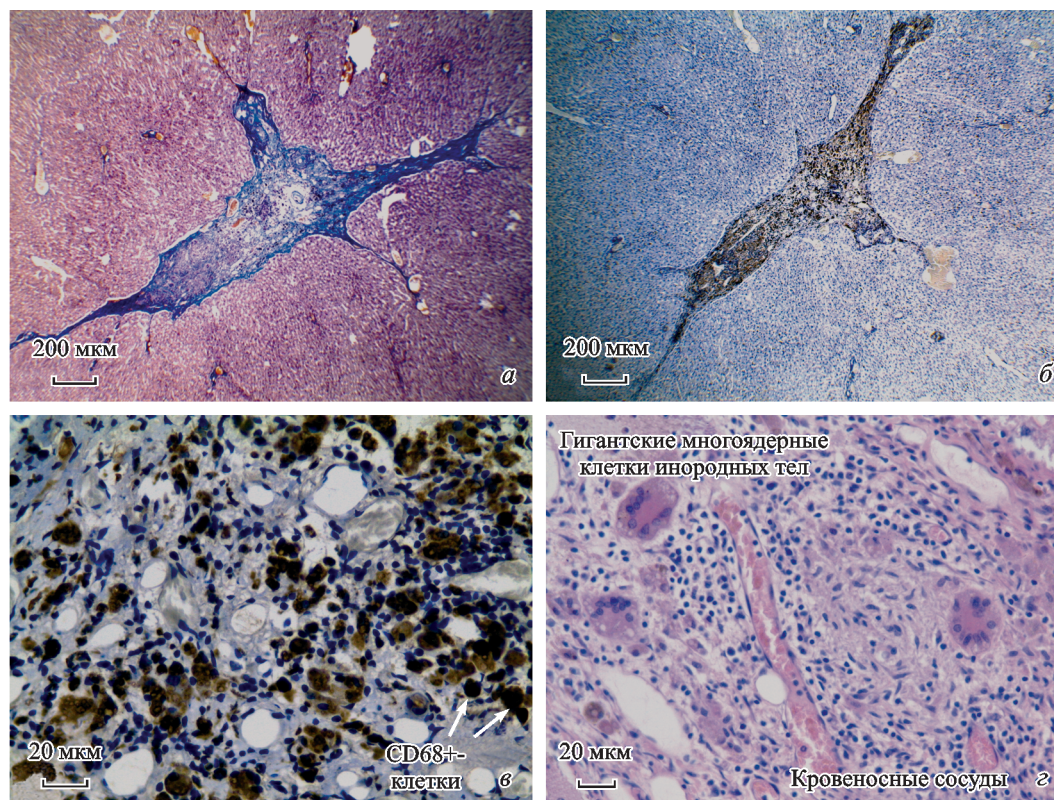


Рис. 7. Гистологические срезы ткани печени крысы через 6 нед после имплантации пористой коллагеновой матрицы (ПКМ). *а* — окраска по методу Маллори, об. 4×; *б*, *в* — иммуногистохимическое выявление CD68+-клеток, об. 4× (*б*), 40× (*в*); *г* — окраска гематоксилином и эозином, об. 40×.

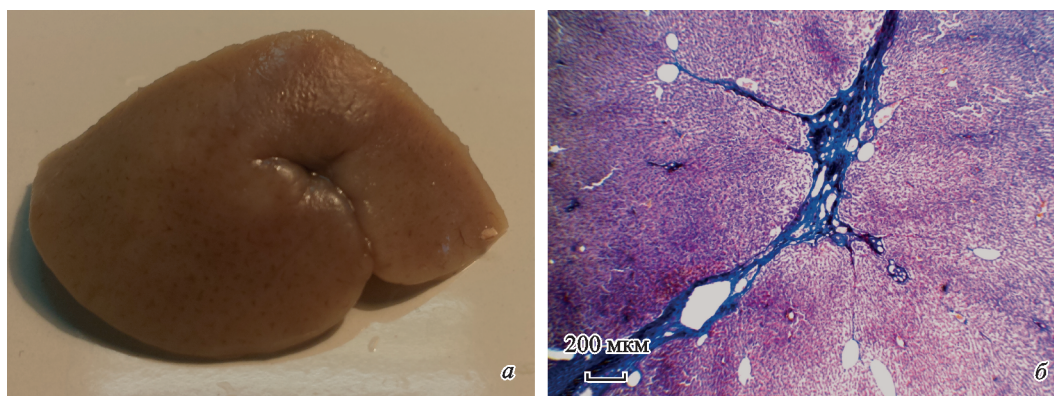


Рис. 8. Общий вид печени после фиксации в 10%-ном формалине в течение 24 ч (а) и гистологический срез ткани печени крысы, окрашенный по методу Маллори, об. 4× (б), через 20 нед после имплантации пористой коллагеновой матрицы (ПКМ).

имплантации находится рубец звездчатой формы (рис. 8, а). Морфологически на месте матрицы выявляется соединительная ткань с сосудами. Визуально площадь, занимаемая соединительной тканью, меньше по сравнению с площадью, занимаемой соединительной тканью через 6 нед после имплантации (рис. 8, б). Фрагментов матрицы не обнаружено.

В мышечной ткани на данном сроке эксперимента на месте имплантации ПКМ не выявляется соединительнотканых рубцов. Мышечные волокна без видимых признаков повреждения формируют плотные пучки.

Таким образом, с использованием методов морфологического анализа показано, что ПКМ, замещающая дефект в печени и мышцах, только на ранних сроках после имплантации вызывает умеренно выраженные воспалительные реакции в данных тканях, на более поздних сроках признаков таких реакций не выявляется, также имплантация матрицы не вызывает дистрофических изменений гепатоцитов и мышечных волокон. Биорезорбция ПКМ протекает при активном участии CD68+-клеток. Клетки системы мононуклеарных фагоцитов первыми, раньше фибробластов, проникают во все ячейки матрицы и активно поглощают ее материал. Выполнив свою функцию, CD68+-клетки погибают путем апоптоза. При активных процессах фагоцитоза фибробласты в печени заселяют лишь единичные периферические ячейки матрицы, что в свою очередь не способствует прорастанию кровеносных сосудов в глубь матрицы. Полная биорезорбция матрицы в печени завершается через 6 нед экспозиции.

В мышцах в результате деятельности CD68+-клеток и давления мышечных волокон ПКМ резко уменьшается в объеме, и уже через 3 нед ее фрагменты не удается обнаружить.

Таким образом, ключевую роль в биодеградации ПКМ выполняют CD68+-клетки. Макрофаги и гигантские многоядерные клетки инородных тел первыми заполняют объем ячеек и активно фагоцитируют материал матрицы. При этом ячейки ПКМ не прорастают соединительной тканью и сосудами, так как биорезорбция матрицы протекает быстрее, чем миграция в нее фибробластов.

После завершения процесса биорезорбции в печени выявляется рубцовая ткань, в мышцах рубцовой ткани не обнаружено.

Результаты исследования позволяют рекомендовать ПКМ для получения биоинженерных препаратов короткого срока действия с дальнейшим применением их в ре-

генеративной медицине, тканевой инженерии и клеточной трансплантологии.

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

Список литературы

- Добровольская И. П., Попрядухин П. В., Юдин В. Е., Иванькова Е. М., Юкина Г. Ю., Юденко А. Н., Смирнова Н. В. 2016. Биологическая резорбция волокон из хитозана в эндомизии и перимизии мышечной ткани. *Цитология*. 58 (6) : 460—466. (Dobrovolskaya I. P., Popryadukhin P. V., Yudin V. E., Ivan'kova E. M., Yukina G. Yu., Yudenko A. N., Smirnova N. V. 2016. Biological resorption of fibers from chitosan in endomysium and perimysium of muscular tissue. *Cell Tissue Biol.* 10 (5) : 395—401.)
- Попрядухин П. В., Юкина Г. Ю., Суслов Д. Н., Добровольская И. П., Иванькова Е. М., Юдин В. Е. 2016. Биорезорбция пористых 3D-материалов на основе хитозана. *Цитология*. 58 (10) : 771—777. (Popryadukhin P. V., Yukina G. Yu., Suslov D. N., Dobrovolskaya I. P., Ivankova E. M., Yudin V. E. 2016. Bioresorption of porous 3D-materials based on chitosan. *Tsitologiya*. 58 (10) : 771—777.)
- Соловьева Н. И. 1998. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции. *Биоорганическая химия*. 24 (4) : 245—255. (Solov'eva N. I. 1998. Matrix metalloproteinases and their biological functions. *Bioorganicheskaya khimiya*. 24 (4) : 245—255.)
- Armentano I., Dottori M., Fortunati E., Kenny J. M. 2010. Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: a review. *Polym. Degrad. Stab.* 95 (11) : 2126—2146.
- Berisio R., Vitagliano L., Mazzarella L., Zagari A. 2002. Crystal structure of the collagen triple helix model [(Pro-Pro-Gly)₁₀]₃. *Protein Sci.* 11 (2) : 262—270.
- 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. *Carbohydr. Polym.* 80 : 860—865.
- Causa F., Netti P. A., Ambrosio L. 2007. A multi-functional scaffold for tissue regeneration: the need to engineer a tissue analogue. *Biomaterials*. 28 (34) : 5093—5099.
- Chattopadhyay S., Raines R. T. 2014. Collagen-based biomaterials for wound healing. *Biopolymers*. 101 (8) : 821—833.
- Cheung H., Lau K., Lu T., Hui D. 2007. A critical review on polymer-based bio-engineered materials for scaffold development. *Composites Part B: Engineering*. 38 (3) : 291—300.
- Dhandayuthapani B., Yoshida Y., Maekawa T., Kumar D. S. 2011. Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review. *Int. J. Polymer Sci.* Article ID 290602.

- Dobrovolskaya I. P., Popryadukhin P. V., Yudin V. E., Ivan'kova E. M., Elokhovskiy V. Yu., Weishauptova Z., Balik K. 2015. Structure and properties of porous films based on aliphatic copolyamide developed for cellular technologies. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 26 (1) : 5381—5391.
- Dornish M., Kaplan D., Skaugrud O. 2001. Standards and guidelines for biopolymers in tissue-engineered medical products. *Academy Sci.* 944 : 388—397.
- Gleadall A., Pan J., Kruff M.-A., Kellomaki 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. Cell. Mater.* 20 : 1—16.
- 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. *Polym. Test.* 52 : 41—45.
- Khan F., Tanaka M., Ahmad S. R. 2015. Fabrication of polymeric biomaterials: a strategy for tissue engineering and medical devices. *J. Mater. Chem. B.* 3 : 8224—8249.
- Kohane D. S., Langer R. 2008. Polymeric biomaterials in tissue engineering. *Pediatr. Res.* 63 (5) : 487—491.
- Ma Z., Kotaki M., Inai R., Ramakrishna S. 2005. Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Eng.* 11 (1—2) : 101—109.
- Martinoa Di A., Sittinger M., Risbud M. V. 2005. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials.* 26 : 5983—5990.
- Parenteau-Bareil R., Gauvin R., Berthod F. 2010. Collagen-based biomaterials for tissue engineering applications. *Materials.* 3 : 1863—1887.
- Sachlos E., Czernuszka J. T. 2003. Making tissue engineering scaffolds work. Review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Making tissue engineering.* *Eur. Cell. Mater.* 5 : 29—40.
- 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.
- Shoulders M. D., Raines R. T. 2009. Collagen structure and stability. *Annu. Rev. Biochem.* 78 : 929—958.
- Whu S. W., Hung K., Hsieh K., Chen C., Tsai C., Hsu S. 2013. *In vitro* and *in vivo* evaluation of chitosan—gelatin scaffolds for cartilage tissue engineering. *Mat. Sci. Eng.* 33 : 2855—2863.
- Yamamoto M., Sawaya R., Mohanam S., Loskutoff D. J., Bruner J. M., Rao V. H., Oka K., Tomonaga M., Nicolson G. L., Rao J. S. 1994. Expression and localization of urokinase-type plasminogen activator receptor in human gliomas. *Cancer Res.* 54 : 3329—3332.

Поступила 7 VI 2017

BIORESORPTION OF POROUS 3D-MATRICES BASED ON COLLAGEN IN THE LIVER AND MUSCULAR FABRICS

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

¹ Institute of Macromolecular Compounds RAS, St. Petersburg, 199004,

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

High porous 3D-matrix in form cylinders, 1.3 and 3.0 mm in diameter, had been obtained by lyophilization of the collagen solution. An *in vivo* study of the mechanism and rate of resorption of the resulting material showed that complete resorption of the matrix occurred in 6 weeks after their implantation into the liver tissue of the animal and in 3 weeks after implantation into the muscle tissue. At the same time, the surrounding tissues were not altered or damaged. Histological analysis revealed that simultaneously with the resorption of matrix collagen, connective tissue and blood vessels were formed. This allows us to recommend the developed porous material based on collagen for using as matrices for tissue engineering and cellular transplantation.

Key words: 3D-porous material, collagen, resorption, tissue engineering, cellular transplantation, liver, muscle tissue, histological analysis.