

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРЫ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРИРОДНЫХ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩИХ МАТЕРИАЛОВ

Гайдаш А.А.<sup>1</sup>, Кулак А.И.<sup>2</sup>, Крутько В.К.<sup>2</sup>, Мусская О.Н.<sup>2</sup>, Кульчицкий В.А.<sup>3</sup>,  
Скороцкая К.В.<sup>4</sup>, Кульбицкая Л.В.<sup>2</sup>, Сычева О.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Республиканский научно-практический центр детской хирургии, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> ИОНХ НАН Беларуси, Минск, Беларусь, E-mail: tsuber@igic.bas-net.by

<sup>3</sup> Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>4</sup> НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

**Введение.** Природные коллагенсодержащие материалы и, в частности, перикард являются традиционным сырьем при разработке имплантатов, предназначенных для хирургической коррекции врожденных пороков сердца и крупных кровеносных сосудов [1, 2]. Используются перикарды алло- и ксеногенного происхождения. По составу, структуре, физико-химическим и микромеханическим свойствам предпочтительным является перикард из аллогraftов. Однако оптимизация свойств аллоперикардиальных имплантатов имеет ряд ограничений и, прежде всего, этических. Технологическую активность сдерживают инфекционные риски и неопределенность, обусловленная действием факторов химической и низкотемпературной консервации. Поэтому для экспериментально-технологических разработок используют коллагенсодержащие материалы, которые получают из организмов лабораторных и сельскохозяйственных животных. Основным удобством данных источников является возможность планировать масштабные технологические исследования в континуальном формате. Для этого необходимы сравнительные сведения об особенностях структуры, физико-химических и механических свойств коллагенсодержащих материалов различного биоисхождения.

**Экспериментальная часть.** Изучены образцы перикарда и сухожилий. Образцы перикарда биопсировали при хирургической коррекции мембранных пороков сердца у 6 несовершеннолетних пациентов. Биоптаты размером 3–5 мм брали по назначениям лечащих врачей с целью уточнения диагнозов на основании информированного согласия законных представителей родственников, утвержденных локальным этическим комитетом РНПЦ детской хирургии. Сухожилия (перитенон) извлекали из хвостового отдела позвоночника у 6 самцов здоровых белых лабораторных крыс, которых гильотинировали на основании разрешения этического комитета Института физиологии НАН Беларуси. Для исследований иссекали образцы перитенонов, освобожденных от прилежащих коллагеновых пучков. Для сканирующей электронной микроскопии образцы перикарда и сухожилий фиксировали в 3% глутаровом альдегиде и подвергали последовательной дегидратацией этанолом. Далее образцы напыляли золотом и изучали на микроскопе LEO 1420. ИК- спектры записывали на ИК-Фурье микроскопе Hyperion с использованием 15-кратного Gir-objective с морфологическим контролем точек съемки спектров. Дифференциально-термический анализ образцов проводили на синхронном термическом анализаторе NETZSCH STA 409 PC 4 H LUXX с вертикальной загрузкой образцов в динамической воздушной атмосфере при скорости потока воздуха 50 мл/мин.

**Результаты и обсуждение.** По данным сканирующей электронной микроскопии отличительными особенностями перитенонов являются следующие: зернистость поверхности коллагеновых фибрилл, обусловленная матриксными пузырьками, высокая степень компактности коллагеновых пучков всех структурных порядков, образованных плотно склеенными первичными коллагеновыми фибриллами. Интерстициальные каналы представлены узкими щелями (3–5 мкм). Лимфоциты и отростчатые клетки (фибробласты, тендиноциты) располагаются в более широких интерстициальных каналах преимущественно в маргинальных слоях, контактирующих с телами позвонков и подлежащих коллагеновых пучков. Коллагеновый каркас перикардов по сравнению с перитенонами более рыхлый. В перикардах коллагеновые волокна собраны в шнуры, состоящие из единичных фибрилл, при этом

интерстициальные щели представлены широкими до 10–15 мкм ветвящимися каналами с множественными поперечными мембранами. Мембраны представляют собой широкопористые тонкие пластины, располагающиеся под разными углами длинных осей фибрилл, но чаще поперек, вдоль коротких осей, диаметр пор составляет 3–7 мкм.

На ИК- спектрах образцов перикарда и перитенонов присутствуют характеристичные полосы амидов, обусловленные валентными колебаниями связей C=O в амиде I при  $1688\text{ см}^{-1}$ , а также при  $1250\text{ см}^{-1}$ , обусловленных валентными колебаниями связей C-N и деформационными колебаниями связей N-H в амиде III (рис. 1). В диапазоне  $855\text{--}875\text{ см}^{-1}$  регистрируются слабые валентные и деформационные колебания связи C–C пролина и гидроксипролина. Интенсивность полосы валентных колебаний воды в диапазоне  $3200\text{--}4000\text{ см}^{-1}$  в перитенонах значительно меньше, что свидетельствует о меньшем содержании «жидкой» воды в сухожилиях. Однако, наибольшие отличия в ИК- спектрах наблюдаются в структуре характеристичных полос валентных колебаний воды. На ИК- спектрах перитенонов характеристичная полоса валентных колебаний воды отчетливо расщеплена на две полосы с положением мод при  $3500\text{ см}^{-1}$  и  $3608\text{ см}^{-1}$ . В перикардах пик аналогичной моды выходит при  $3916\text{ см}^{-1}$ . Кроме того, интенсивность низкочастотного крыла характеристичной полосы валентных колебаний воды в перитенонах явно выше, чем аналогичный параметр в ИК- спектрах перикардов.

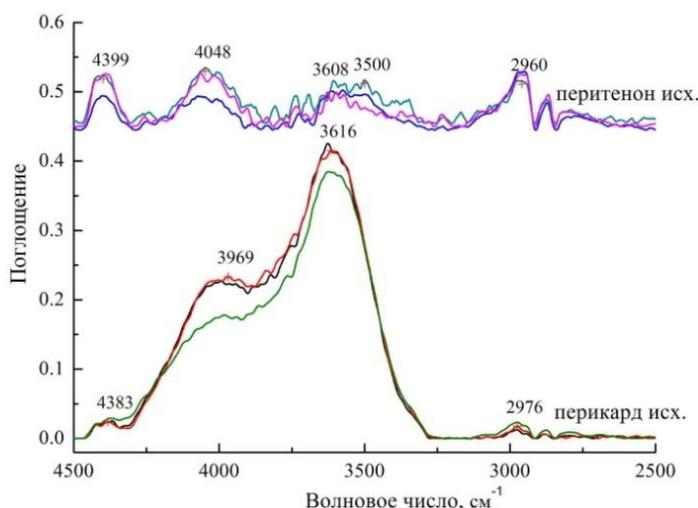
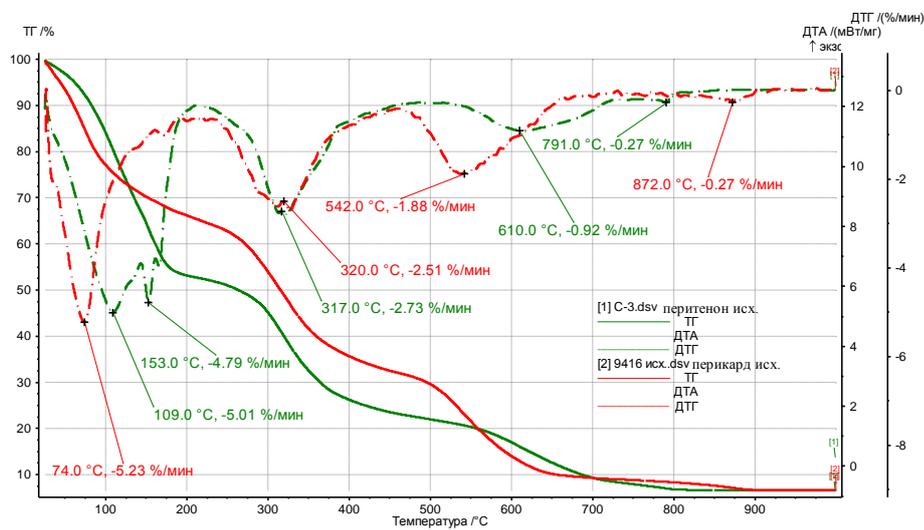


Рисунок 1 – ИК- спектры перикарда и перитенона

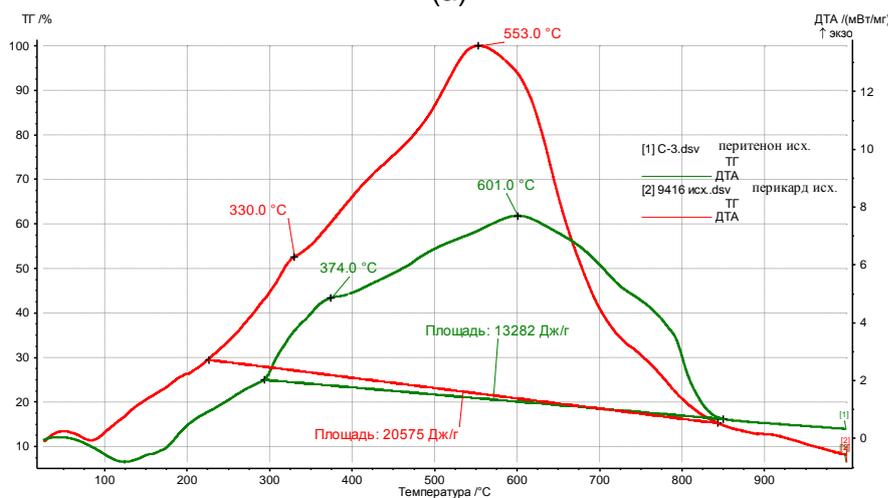
Важным обстоятельством является неразрешенность полос обертоновых колебаний прилежащих к полосам валентных колебаний воды в ИК- спектрах перикардов. В перитенонах, наоборот регистрируется четкое разделение соответствующих полос с модами при  $4038\text{ см}^{-1}$  и  $4399\text{ см}^{-1}$  соответственно (рис. 1). Особенности ИК- спектров, а именно низкочастотный тренд характеристичных полос валентных колебаний воды свидетельствуют о том, что в перитенонах вода находится в более кластеризованном состоянии, что сопровождается возбуждением обертоновых колебаний маловесных кластеров. Расщепление характеристичной полосы валентных колебаний воды свидетельствует о наличие двух водных подсистем, возможно, локализованных в ультратонких каналах коллагеновых фибрилл в интерфейсе с гликозаминогликанами межтучного вещества. При этом в перитенонах эти системы явно более структурированы.

Форма кривых динамической термогравиметрии (ТГ) и термогравиметрии по производной (ДТГ) в диапазоне температур  $25\text{--}200^\circ\text{C}$  свидетельствует о том, что образцы перикардов теряют воду при меньшей температуре ( $74^\circ\text{C}$ ), но с большей скоростью потери массы (рис. 2 а). Следовательно, в перикарде вода более «подвижная» и, возможно, менее кластеризованная. О том, что вода у перикарда менее «полимеризована» свидетельствует динамика температур плавления органической

фазы, пики которых в перикарде варьируют в пределах 553°C, а у перитенонов выше 601°C (рис. 2 б). В диапазоне температур кипения воды на ДТГ- кривой перитенонов четко видны два термографических пика (рис. 2 а). Это значит, что процесс дегидратации в сухожилии происходит в две стадии с максимальной скоростью потери массы при 109°C и 153°C, что может свидетельствовать о наличии нескольких водных подсистем. Отметим, что в целом, результаты термического анализа коррелируют с данными ИК- спектроскопии.



(а)



(б)

Рисунок 2 – ТГ, ДТГ (а) и ДТА (б) кривые перикарда и перитенона

**Заключение.** Выявленные различия в структуре и физико-химических свойствах исследованных природных коллагенсодержащих материалов имеют значение для технологических разработок новых коллагенсодержащих имплантатов.

Список литературы

1. Гайдаш А.А. и др. Доклады НАН Беларуси. 2018. Т.62, №6. С.703–711.
2. Гайдаш А.А. и др. Новости медико-биологических наук. 2018. Т.18, №2. С.96–106.