

**ВПЛИВ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ПОЛІМЕРУ НА СТРУКТУРУ МІКРОВОЛОКОН  
У ВОЛОКНИСТОМУ МАТРИКСІ**

Івано-Франківський національний медичний університет (м. Івано-Франківськ)

kovalchuk-natalja@ukr.net

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Стаття є фрагментом НДР «Комплексна оцінка та оптимізація методів прогнозування, діагностики та лікування стоматологічних захворювань у населення різних вікових груп», № державної реєстрації 0114U001788.

**Вступ.** На сьогоднішній день актуальним питанням залишається проблема відновлення або заміщення тканин та органів із використанням біокаркасів. У зв'язку з цим, у регенеративній медицині сформувався новий напрямок – тканинна інженерія, метою якої є відновлення біологічних функцій, тобто регенерація тканини, а не тільки заміщення її синтетичним матеріалом. Такий підхід дозволяє цілеспрямовано керувати структурно-функціональним станом клітин, які беруть участь в регенеративних процесах [1].

Одним із принципів створення тканинно-інженерного імплантату є розробка функціонального носія для клітин (матриці) на основі біосумісних біодеградуємих матеріалів. В якості перспективних матеріалів керованої регенерації тканин розглядаються як природні полімери (гіалуронова кислота, колаген, желатин, фібриноген, хітозан, пектини, агароза, альгінати, целюлоза, крохмаль, декстран, матрігель) так і синтетичні матеріали (полікапролактон, полілактид) [2].

При створенні тканинно-інженерного імпланту важливе значення має надання матричному матеріалу складної тривимірної волокнистої каркасної структури (нетканний скаффолд) із високим відношенням площі поверхні до загального об'єму, яка імітує міжклітинний тканинний матрикс. Існуючим на сьогодні досить перспективним методом синтезу волокнистого матриксу є електроспінінг [3].

В реконструктивній хірургії некротизуючих інфекційних процесів м'яких тканин тканинні імпланти використовуються одночасно і в якості локальних систем доставки протимікробних препаратів (антибіотиків, сульфадіазину срібла, наноксидів металів) у зону пошкодження [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Сам електроспінінг як метод є енергоємним, а відповідно і дороговартісним. Крім того, в процесі синтезу мікро- та нановолокон таким методом, використовуються токсичні для живих клітин розчинники для полімерів. На даний час залишається актуальним розробка більш дешевого та чистого метод синтезу волокнистих матриксів.

**Мета дослідження.** Оцінити характер будови синтезованих мікроволокон при різних концентраціях полімеру.

**Об'єкт і методи дослідження.** Для проведення досліджень було використано отриманий за розробленим нами методом ротаційного синтезу волокнистий матрикс із гранул 100% чистого полікапролактону (PCL) та полі (L-лактиду) (PLLA). Отриманий волокнистий матрикс аналізували під світловим

мікроскопом Leica DME. Цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів мікроволокон отримували за допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500 при використанні різних об'єктивів мікроскопа (x4, x10, x20), при фіксованому освітленні та відповідно до збільшення об'єктива звуженої апертурній діафрагмі.

Статистичний аналіз результатів було здійснено за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 5.5 (Multiple Regression) із використанням методів варіаційної статистики. Визначалися середньоарифметичне значення (M), стандартна похибка (m).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Як показують результати морфометричного аналізу під світловим мікроскопом, діаметр та переважання кількості полімерних волокон із певною мікроструктурою у нетканному матриксі безпосередньо залежали від концентрації полімеру у розплаві сахарози. Так, при концентраціях полімерів PCL та PLLA 0,02-0,08 г у розплаві сахарози відмічається формування волокон правильної циліндричної форми з веретеноподібними дефектами (рис. 1).

Так, волокна з найменшим діаметром (1,220+0,093) мкм мали густе переплетення у вигляді своєрідних сітчастих глобул. Окрім сітчастої глобулярної структури мікроволокон, відмічались і ті, що формували своєрідну плетену сітчасту структуру, подібну до павутини без повздовжнього розташування. Практично для всіх мікроволокон діаметром (3,478+0,123) мкм характерне їхнє повздовжнє розташування у вигляді організованих груп із вип'ячуванням на їхній поверхні, або у вигляді переплавлених джгутів із тонкими відгалуженнями із радіальним напрямком розташування. По своїй будові, а саме за оптичними характеристиками, мікроволокна також поділялись на монолітні, тобто ті, які формувались із монолітного розплаву, та мікроволокна, що складаються із спаяних тонких фібрил.

Структура та розташування мікроволокон почала мінятися із збільшенням концентрації полімеру до 0,10-0,30 г. Так, кількість аморфних сплавлених та спаяних між собою конгломератів сітчастих структур із тонких мікроволокон та поодиноких прямих і звивистих мікроволокон середнього діаметру (2,963+0,103) мкм замінялась на більш організовані мікроволокна різного діаметру із переважанням монолітних, а не спаяних волокон (рис. 2).

Відмічалось також збільшення поперечного діаметру (6,285+0,134) мкм та довжини самих мікроволокон, на відміну від попередніх концентрацій, де вони були дещо більше фрагментовані. На даних мікроволокнах, замість глобулярних вип'ячувань, відгалужувались повноцінні тонкі мікроволокна товщиною до (1,485+0,103) мкм. Групи тонких мікро-

волокон (1,574±0,083) мкм, які виділялись з іншої частини матриксу, у концентраціях 0,20-0,26 г формували також тонкі ниткоподібні структури, які утворювали густу сітку.

Із зростанням концентрації полімеру до 0,32-0,50 г в деяких мікрволокнистих каркасах почали відмічатись мікрволокна із чітко організованим розташуванням у вигляді зіркоподібних розгалужень від широкої основи (рис. 3).

Основою прикріплення такого типу мікрволокон були групи мікроскопічних волокон, які, сплавляючись між собою, утворювали своєрідну мікроплівку. Мікроскопічний аналіз показав, що мікрволокна, які утворюють мікроплівку, мають чітку повздовжню орієнтацію, яка співпадає із напрямком відгалуження мікрволокон від широкої основи.

Отже, за результатами проведеного аналізу товщини та мікроструктури мікрволокон термопластичних біополімерів PCL та PLLA можна зробити висновок, що при дуже малих початкових концентраціях полімерів в розплаві сахарози у волокнистих матриксах переважали мікрволокна хоч із найменшим поперечним діаметром, але у вигляді тонких, подекуди спаяних та скручених між собою, фрагментованих ниток із наявними глобулами на їхній поверхні. Даний ефект можна пояснити тим, що в процесі синтезу мікрволокон при незначних концентраціях полімеру нерівномірне витягування призводить до скручування, злипання та спаявання між собою. При збільшенні концентрації полімеру його об'єм у розплаві сахарози навпаки, дозволяв повноцінно витягнути саме волокно, що і призводило до збільшення кількості більш організованих як тонких, так і товстих мікрволокон в матриксі.

### Висновки.

1. Ротаційний метод синтезу мікрволокон із розплаву полімеру та сахарози дозволяє отримати сформований волокнистий матрикс без шкідливих домішок та великих енергетичних затрат.

2. Поєднання полімеру в розплаві сахарози та відцентрової сили формувало дуже тонкі полімерні мікрволокна, товщина та структура яких залежала від концентрації полімеру.

3. Синтезовані нами мікрволокна, завдяки своєму густому переплетенню, утворюють пористий матрикс або своєрідний каркас для утримання на ньому препаратів та формування тканин при заміщенні дефекту.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження можуть бути спрямовані на вивчення клінічної ефективності імплантів з розроблених нами

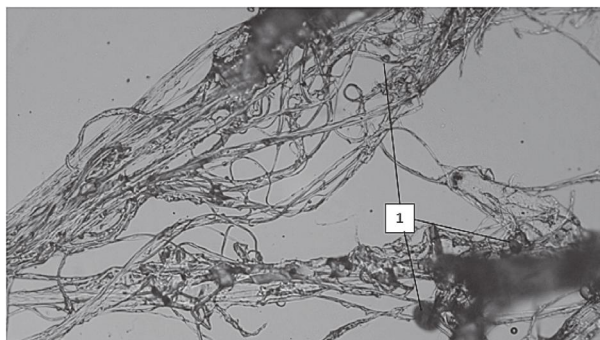


Рисунок 1 – Мікрволокна із повздовжнім розташуванням при концентрації полімеру в розплаві 0,02 г. Зб.: ок.10, об.20.  
Позначення: 1 – глобули на поверхні волокон.

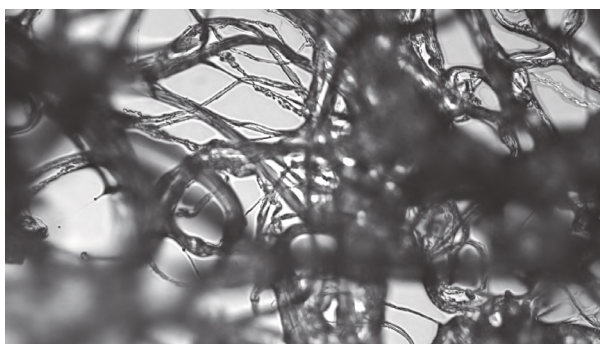


Рисунок 2 – Знімок мікрволокон при концентрації полімеру в розплаві 0,30 г. Зб.: ок.10, об.20.

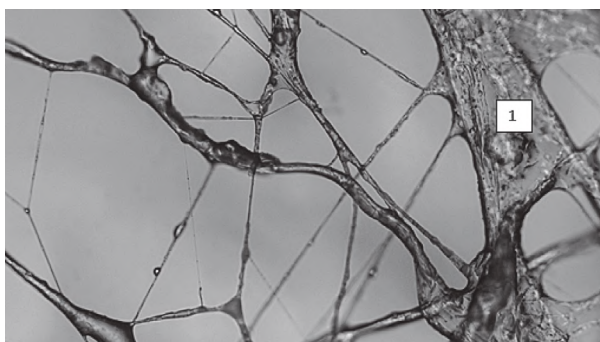


Рисунок 3 – Знімок трабекулярної будови мікрволокон при концентрації полімеру в розплаві 0,36 г. Зб.: ок.10, об.20.  
Позначення: 1 – мікроплівки

матриксних матеріалів, імпрегнованих антибіотиками. Потребує уточнення тривалість елюції імпрегнованих антибіотиків з різних матриксних матеріалів. Питанням далекої перспективи може бути розробка і вивчення нових матриксних матеріалів, здатних забезпечувати пролонговане вивільнення антибіотиків в тканини у ділянці їх інфекційного ураження.

### Література

- Sharma A, Faubion WA, Dietz AB. Regenerative Materials for Surgical Reconstruction: Current Spectrum of Materials and a Proposed Method for Classification. *Mayo Clin. Proc.* 2019;10(94):2099-2116.
- Sevostyanova VV, Golovkin AS, Filipev DE, Glushkova TV, Borisov VV, Burago AYU, et al. Vyibor optimalnykh parametrov elektrospringinga dlya izgotovleniya sosudistogo grafta malogo diametra iz polikaprolaktona. *Fundamental'nyye issledovaniya.* 2014;10(1):180-184. [in Russian].
- Conway J, Jacquemet G. Cell matrix adhesion in cell migration. *Essays in Biochemistry.* 2019;5(63):2012-9.
- EUCAST. Clinical breakpoints – bacteria v 9.0 [Internet]; 2019 [ updated 2019 Jan 1]. Available from: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/).
- Markakis K, Faris AR, Sharaf H, Barzo Faris, Rees S, Bowling FL. Local Antibiotic Delivery Systems: Current and Future Applications for Diabetic Foot Infections. *Int. J. Lower Extremity Wounds.* 2018;1(17):14-21.
- Marson BA, Deshmukh SR, Grindlay DJC, Ollivere BJ, Scammell BE. A systematic review of local antibiotic devices used to improve wound healing following the surgical management of foot infections in diabetics. *Bone Joint Journal.* 2008;11(100):1409-1415.
- Garvin K, Feschuk C. Polylactide-polyglycolide antibiotic implants. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2005;437:105-110.

- Suchý T, Šupová M, Klapková E, Adamkova V, Zavora J, Zaloudkova M, et. al. The release kinetics, antimicrobial activity and cytocompatibility of differently prepared collagen/hydroxyapatite/vancomycin layers: Microstructure vs. Nanostructure. Eur. J. Pharm. Sci. 2017;100:219-229.
- Nishimura J, Nakajima K, Souma Y, Takahashi T, Ikeguchi N, Takenaka R, et. al. The possibility of using fibrin-based collagen as an antibiotic delivery system. Surg. Today. 2013;2(43):185-190.
- Costa Almeida CE, Reis L, Carvalho L, Costa Almeida CM. Collagen implant with gentamicin sulphate reduces surgical site infection in vascular surgery: A prospective cohort study. Int. J. Surg. 2014;10(12):1100-1104.
- Rapetto F, Bruno VD, Guida G, Marsico R, Chivasso P, Zebebe C. Gentamicin-Impregnated Collagen Sponge: Effectiveness in Preventing Sternal Wound Infection in High-Risk Cardiac Surgery. Drug Target Insights. 2016;1(10):9-13.

### **ВПЛИВ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ПОЛІМЕРУ НА СТРУКТУРУ МІКРОВОЛОКОН У ВОЛОКНИСТОМУ МАТРИКСІ** **Пантус А. В., Рожко М. М., Ковальчук Н. Є., Ярмошук І. Р.**

**Резюме.** На сьогоднішній день актуальним питанням залишається проблема відновлення або заміщення тканин та органів із використанням біокаркасів. Одним із принципів створення тканинно-інженерного імплантату є розробка функціонального носія для клітин (матриці) на основі біосумісних біодеградуєчих матеріалів. При створенні тканинно-інженерного імпланту важливе значення має надання матричному матеріалу складної тривимірної волокнистої каркасної структури (нетканний скаффолд) із високим відношенням площі поверхні до загального об'єму, яка імітує міжклітинний тканинний матрикс. Метою нашого дослідження було оцінити характер будови синтезованих мікрОВОЛОКОН при різних концентраціях полімеру.

Для проведення досліджень було використано отриманий за розробленим нами методом ротаційного синтезу волокнистий матрикс із гранул 100% чистого полікапролактону (PCL) та полі (L-лактиду) (PLLA). Отриманий волокнистий матрикс аналізували під світловим мікроскопом Leica DME.

Як показують результати морфометричного аналізу під світловим мікроскопом, діаметр та переважання кількості полімерних волокон із певною мікроструктурою у нетканому матриксі безпосередньо залежали від концентрації полімеру у розплаві сахарози. Так, волокна з найменшим діаметром (1,220±0,093) мкм мали густе переплетення у вигляді своєрідних сітчастих глобул, а також відмічались і ті, що формували своєрідну плетену сітчасту структуру, подібну до павутини без повздовжнього розташування. Практично для всіх мікрОВОЛОКОН діаметром (3,478±0,123) мкм характерне їхнє повздовжнє розташування у вигляді організованих груп із вип'ячуванням на їхній поверхні, або у вигляді переплавлених джгутів з тонкими відгалуженнями із радіальним напрямком розташування.

Отже, за результатами проведеного нами аналізу товщини та мікроструктури мікрОВОЛОКОН термопластичних біополімерів PCL та PLLA, можна зробити висновок, що в процесі синтезу мікрОВОЛОКОН при незначних концентраціях полімеру нерівномірне витягування призводить до скручування, злипання та спаювання між собою. При збільшенні концентрації полімеру його об'єм у розплаві сахарози навпаки, дозволяв повноцінно витягнути саме волокно, що і призводило до збільшення кількості більш організованих як тонких, так і товстих мікрОВОЛОКОН в матриксі.

**Ключові слова:** біополімер, матрикс, мікрОВОЛОКОНО, сахароза.

### **INFLUENCE OF DIFFERENT POLYMER CONCENTRATIONS ON THE STRUCTURE OF MICROFIBERS IN THE FIBROUS MATRIX**

**Pantus A. V., Rozhko M. M., Kovalchuk N. E., Yarmoshuk I. R.**

**Abstract.** Today, the problem of restoration or replacement of tissues and organs using bio-scaffolds remains an urgent issue. When creating a tissue-engineered implant, it is important to provide matrix materials with a complex three-dimensional fibrous scaffold structure (non-woven scaffold) with a high ratio of surface area to total volume, imitating the intercellular tissue matrix. The currently existing promising method for synthesizing a fibrous matrix is electrospinning, which is energy-intensive and, accordingly, expensive. Currently, the development of a cheaper and cleaner method for the synthesis of fibrous matrices remains relevant. The aim of our study was to assess the nature of the structure of synthesized micro-flocks at various polymer concentrations. To carry out the research, we used a fibrous matrix obtained by our developed rotational synthesis from granules of 100% pure polycaprolactone (PCL) and poly(lactide) (PLLA). The resulting fibrous matrix was analyzed under a Leica DME light microscope.

So, according to the results of the analysis of the thickness and microstructure of microfibers of thermoplastic biopolymers PCL and PLLA, it can be concluded that at very low initial concentrations of polymers in the sucrose melt, microfibers with the smallest transverse diameter prevailed in the fibrous matrices, but in the form of thin welded and twisted fragmented threads with available globules on their surface. This effect can be explained by the fact that during the synthesis of microfibers at low polymer concentrations and uneven stretching leads to twisting, adhesion and soldering to each other. With an increase in the polymer concentration, its volume in the sucrose melt, on the contrary, made it possible to fully stretch the fiber, which led to an increase in the number of microfibers more organized in the form of thin and thick microfibers in the matrix.

**Key words:** biopolymer, matrix, microfiber, sucrose.

*Рецензент – проф. Гасюк П. А.  
Стаття надійшла 22.12.2020 року*