

МЕХАНИКА МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

УДК 531.36

Механические свойства синтетических матриков трахеи на основе полимерного ультраволокнистого материала

М. В. Киселевский¹, Н. Ю. Анисимова¹, А. Д. Шепелев², Т. Х. Тенчурин²,
В. Г. Мамагулашвили², С. В. Крашенинников², Т. Е. Григорьев², С. Н. Чвалун²,
М. И. Давыдов¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
"Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина"
Россия, 115478, Москва, Каширское ш., 24
kisele@inbox.ru; 8 (499)-324-27-94

²Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт"
Россия, 123098, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

Проведены исследования механических свойств матриков трахеи на основе полимерного ультраволокнистого материала армированного полиуретановыми полукольцами. Установлено отсутствие значительных различий в показателях прочности мягкотканого материала и упругости между синтетическими матриксами и нативными трахеями. Разработанные технологические подходы с применением методов электроспиннинга и термопрессования позволяют получить на основе полимерных биосовместимых материалов медицинского назначения матриксы трахеи по своим конфигуративным, конструктивным и механическим свойствам аналогичные нативной трахее.

Ключевые слова: синтетические матриксы трахеи; механические свойства; полимерный ультраволокнистый материал.

Введение

Известно, что трахея является трубчатым органом, ее длина у человека составляет примерно 9–11 см, поперечный диаметр равен 15–18 мм, но этот показатель является индивидуальным параметром, так как зависит от

возраста человека/пациента. Просвет трахеи характеризуется незначительными изменениями по всей ее длине. Стенки данного органа состоят из 16–20 неполных колец хрящевой структуры (благодаря этим кольцам трахея гибкая и пружинистая). Гиалиновые кольцевые хрящи трахеи соединяются между собой кольцевыми связями. Задняя стенка трахеи (мембранозная часть) лишена хрящевых структур и представляет собой соединительнотканную оболочку. Трахея собак имеет аналогичное строение [1; 2]. Для лабораторных исследований было рекомендовано использовать собак породы бигль [3].

© Киселевский М.В., Анисимова Н.Ю., Шепелев А.Д., Тенчурин Т.Х., Мамагулашвили В.Г., Крашенинников С.В., Григорьев Т.Е., Чвалун С.Н., Давыдов М.И., 2015
Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Соглашение № 14.604.21.0023 от 17.06.2014 г. о предоставлении субсидии, уникальный идентификатор прикладных научных исследований уникальный идентификатор RFMEFI60414X0023).

Отметим, что различные патологические состояния, такие как травмы, злокачественные новообразования, инфекционные и аутоиммунные заболевания приводят к поражениям трахеи, и требуют проведения реконструкции или трансплантации данного органа [4–7]. Поэтому создание протезов трахеи, обладающих биосовместимостью и необходимыми механическими свойствами, обеспечивающими адекватную дыхательную функцию, является актуальной задачей. Неоднократные попытки создать работоспособный матрикс трахеи, который полностью заменил бы нативную трахею, не увенчались успехом [8–14]. Это связано с тем, что до настоящего времени не удалось разработать конструкцию, сочетающую в себе оптимальные механические свойства, химическую стабильность и структуру, обеспечивающую диффузию газов, метаболитов и межклеточные взаимодействия.

В последние годы наблюдается повышенный интерес к исследованиям в области трансплантации трахеи, и основные исследования сосредоточены на создании 3D-скаффолдов на основе природных и синтетических материалов [9; 10; 15]. Одним из перспективных направлений является создание матриц трахеи на основе биосовместимых пористых или волокнистых материалов, имитирующих нативные ткани. Несмотря на значительный прогресс в области трансплантации трахеи, "золотой стандарт" еще не найден, и продолжаются дискуссии, направленные на выявление идеального скаффолда. Создание протезов трахеи основывается на данных изучения механических свойств трахеи человека и экспериментальных животных (крыс, кроликов и свиней).

В предыдущих экспериментальных работах оценивался хрящ трахеи, который рассматривался в качестве линейно-упругого материала. По мнению других исследователей, хрящ трахеи, как и большинство других биологических мягких тканей, может характеризоваться нелинейными механическими свойствами [16; 17].

Анализ современной научно-технической, нормативной, методической литературы, свидетельствует о том, что для создания матриц трахеи могут быть использованы полимерные материалы, которые используются для медицинских целей [18–21]. Поэтому целью настоящего исследования было создание на основе биосовместимых полимерных мате-

риалов матрикса трахеи, обладающего оптимальными механическими свойствами.

1. Материалы и методы

В связи с тем, что синтетические матриксы трахеи должны имитировать структурные особенности и механические свойства нативной трахеи, нами в качестве образца были использованы трахеи 6 собак породы бигль в возрасте 2–5 лет.

Разработка методических подходов к созданию матрикса трахеи включала определение конструктивных, конфигуративных и размерных параметров нативной трахеи собак, на которые следовало ориентироваться при создании полноразмерных матриц. С этой целью были определены размерные характеристики шейной части нативных трахей 6 собак породы бигль, которые были использованы для создания синтетического матрикса трахеи. Статистический анализ представлен в табл. 1.

Таблица 1. Средние значения размеров хрящевых полуколец и межхрящевых промежутков трахеи собак

Параметр	Значение (мм)
Ширина полукольца	4,0±0,3
Длина полукольца	64±2,3
Толщина полукольца	2,0±0,3

1.1. Изготовление образцов матриц трахеи

Изготовление матрикса трахеи осуществлялось с использованием метода электроспиннинга (электроформования) и термопрессования. Этот метод был выбран потому, что он позволяет получать волокнистые материалы со структурой, близкой (аналогичной) к структуре нативных тканей. Методом электроспиннинга был получен нетканый материал, являющийся мягкотканой основой матрикса. В качестве полимера для изготовления этого материала использовали сополимер тетрафторэтилена с винилиденфторидом. Полукольца, армирующие нетканый полимерный материал, получали методом термопрессования из полиуретана.

Для получения нетканой основы матриц трахеи использовали однокапиллярную установку с металлическим осадительным электродом цилиндрической формы. Формование волокнистых слоев матрикса

проводили таким образом, чтобы волокна в слоях были бы скреплены между собой. Такое решение позволяло обеспечить неразрывность структуры и обеспечивало надежное положение полуколец в структуре матрикса. В процессе формования в структуру матрикса трахеи вставлялись опорные полукольца из полиуретана. После изготовления волокнистого слоя толщиной 1,0 мм (внутренний слой) на него устанавливались опорные полукольца из полиуретана, поверх которых наносился внешний слой нетканого материала.

1.2. Определение механических свойств синтетических матриксов в сравнении с нативной трахеей

Для оценки механических свойств от каждого из 5 образцов нативной трахеи собаки и 6 образцов синтетического матрикса отбирали 2 фрагмента для испытаний: участок органа, включающий хрящевые или полиуретановые полукольца, шириной $10,0 \pm 0,1$ мм и фрагменты внутреннего и внешнего слоев нетканого матрикса длиной $50,0 \pm 0,1$ мм и шириной $10,00 \pm 0,05$ мм. Такая форма образца является типичной при испытании нетканых материалов. Расчет прочности образца проводили, определяя условное сечение образцов через их массу и плотность соответствующего полимера [22]. Модуль Юнга рассчитывали по стандартным методикам. Результаты исследования прочностных свойств материалов приведены с указанием стандартной ошибки.

Участок органа или матрикса, включающий полукольца, исследовали на однократное сжатие с определением показателя кольцевой жесткости при вертикальном изменении внутреннего диаметра на 20 %, рассчитанного по ASTM D 2412-02, и на многократное сжатие: падение развиваемой нагрузки после 1000 циклов сжатия на 20 % внутреннего диаметра в сравнении с первым циклом. Испытания проводили в среде фосфатного буфера при температуре 23 ± 1 °C.

Исследование механических свойств образцов проводили с использованием универсальной испытательной машины Инстрон 5965 с набором зажимов и платформ для испытаний на растяжение и на сжатие (рис. 1). Скорость движения активного захвата при растяжении составляла 25 мм/мин.; а при сжатии – 10 мм/мин.

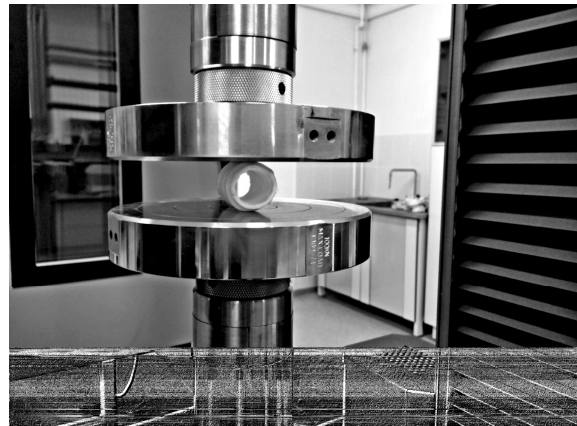


Рис. 1. Оценка механических свойств образцов с помощью универсальной испытательной машины Инстрон 5965 с компьютерной системой анализа данных в рабочем режиме

2. Результаты

2.1. Конструктивные и размерные характеристики экспериментальных образцов

Нативная трахея представляет собой мягкотканую тубулярную структуру, армированную хрящевыми полукольцами. Пространство между разомкнутыми концами полуколец определяется как мембранозная часть трахеи. Конфигурация нативной трахеи описывается как полый цилиндр, поперечное сечение – округлое, с уплощенной вентральной частью. Образцы синтетических матриксов также представляли собой трубчатую конструкцию, армированную полукольцами, т.е. они являлись аналогами нативной трахеи (рис. 2; 3).



Рис. 2. Шейная часть трахеи взрослой собаки



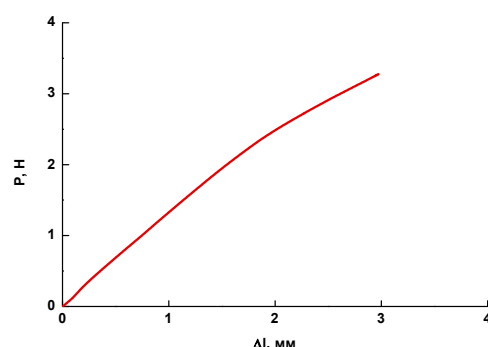
Рис. 3. Образец матрикса трахеи на основе полимерных ультраволокнистых материалов для экспериментов на собаках

Таблица 2. Размерные характеристики полученных экспериментальных образцов

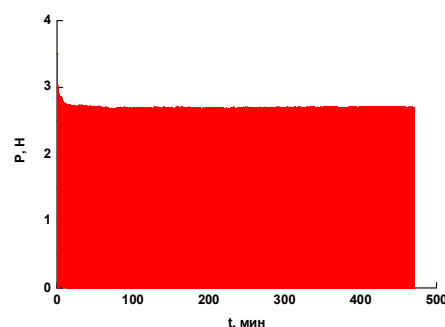
Критерий статистического анализа	Экспериментальные образцы (n=6)		
	Линейные размеры, см	Диаметр, см	Площадь наружной поверхности, см ² *
Медиана	14,2	2,6	111,5
Минимум	5,0	2,0	31,4
Максимум	16,8	3,4	168,8
25th % квартиль	13,4	2,5	105,9
75th % квартиль	14,8	3,1	139,8

2.2. Исследование механических характеристик нативной трахеи собак

На первом этапе изучения механических характеристик разрабатываемых образцов матрикса требовалось оценить параметры нативной трахеи крупных собак, на которые следовало ориентироваться при создании матриц. С этой целью изучали механические свойства шейной части трахей собак породы бигль, изъятых для исследования не позднее 2. ч после гибели животных. Типичные виды деформационных кривых и результаты статистического анализа полученных первичных данных приведены на рис. 4 и в табл. 3.



а



б

Рис. 4. Механическое поведение хряща трахеи взрослых собак породы бигль при однократном сжатии (а) и при циклических испытаниях на сжатие (б)

Таблица 3. Механические свойства трахеи взрослых собак породы бигль

Критерий статистического анализа	Участок органа, включающий хрящевое полукольцо	
	Многократное сжатие – показатель падения развиваемой нагрузки, %	Однократное сжатие – показатель кольцевой жесткости, КПа
Медиана	7,0	37,2
Минимум	6,3	32,2
Максимум	8,2	41,0
25th % квартиль	6,3	32,2
75th % квартиль	8,2	41

2.3. Исследования прочности образцов матриц трахеи

Показатели прочности образцов матриц трахеи представлены в табл. 4.

Таблица 4. Прочностные характеристики внешнего и внутреннего слоев матриксов трахеи

Материал	Критерий статистического анализа	Условная прочность при разрыве, МПа	Условный модуль Юнга, МПа
Внешний слой	Медиана	13,5	29,5
	Минимум	12,2	23,0
	Максимум	14,6	38,8
	25th% квартиль	12,7	24,0
	75th% квартиль	14,6	33,1
Внутренний слой	Медиана	12,6	30,5
	Минимум	10,9	24,0
	Максимум	14,1	36,0
	25th% квартиль	11,5	28,0
	75th% квартиль	14,1	33,4
Сравнение с нативной трахеей, min-max, %		2-18	2-28

2.4. Исследование упругости синтетических матриксов трахеи

На следующем этапе исследовали упругость (рис. 5; табл. 5).

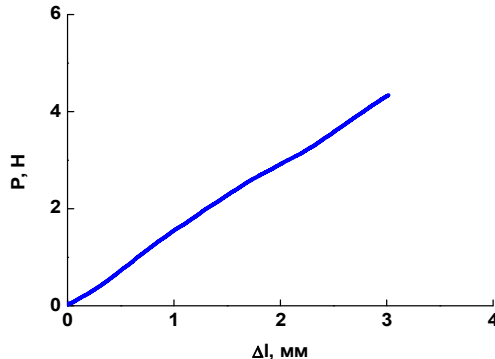


Рис. 5. Механическое поведение синтетического матрикса трахеи при однократном сжатии

Приведенные данные указывают на то, что были подобраны оптимальные значения толщины и химического состава армирующих полуколец, поскольку оцениваемые критерии синтетического матрикса отличались от показателей нативного органа не более чем на 28 %. В частности, при испытании на однократное сжатие кольцевая жесткость при вертикальном изменении внутреннего диаметра на 20 %, соответствовала не менее 38,2 кПа при минимуме 30 кПа.

Таблица 5. Упругость фрагмента матрикса, армированного полукольцами на основе полиуретана

Критерий статистического анализа	Многokrатное сжатие – показатель падения развиваемой нагрузки, %	Однократное сжатие – показатель кольцевой жесткости, кПа
Среднее знач.	8,2	42,6
Медиана	8,2	43,4
SD case 1-90	0,41	3,33
Минимум	7,6	38,2
Максимум	8,6	47,2
25th% квартиль	7,8	39,2
75th% квартиль	8,6	44,0
Сравнение с нативной трахеей, min-max, %	6–20	4–28

При испытании на многократное сжатие после 1000 циклов сжатия на 20 % внутреннего диаметра падение развиваемой нагрузки отличалось от значения в первом цикле не более чем на 8,6.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что армирующая часть матрикса биоимплантата, представленная полукольцами из полиуретана, обеспечивает разработанным экспериментальным образцам необходимую упругость.

Заключение

С использованием методов электропиннинга и термопрессования были созданы синтетические матриксы трахеи на основе ультраволокнистых нетканых полимерных материалов, армированных для создания каркасности и упругости полиуретановыми полукольцами. По своим конструктивным и конфигуративным свойствам полученные матриксы воспроизводят нативную трахею экспериментальных животных – собак породы бигль, на которых будут проводиться биологические исследования. Статистические исследования показали отсутствие значительных различий в показателях прочности мягкотканого материала и упругости армированных хрящевыми или полиуретановыми полукольцами участков между синтетическими матриксами и нативными трахеями. Отличия в регистрируемых показателях находились в пределах 28 %. Также не было обнаружено существенных колебаний в регистрируемых параметрах

механических свойств между отдельными синтетическими матриксами трахеи.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что разработанные технологические подходы с применением методов электроспиннинга и термопрессования позволяют получить на основе полимерных биосовместимых материалов медицинского назначения матриксы трахеи по своим конфигуративным, конструктивным и механическим свойствам аналогичные нативной трахее. Вышеизложенное позволяет перейти к биологическим исследованиям функциональных свойств синтетических матриц на крупных экспериментальных животных при необходимости замещения дефектов трахеи.

Список литературы

1. Копылов А.Н., Анисимова Н.Ю., Тенчурин Т.Х. и др. Перспективные материалы для создания матрикса имплантата трахеи // Российский биотерапевтический журнал. 2014. № 2. С. 67–71.
2. Trabelsi O., del Palomar A.P., Lypetz-Villalobos J.L. et al. Experimental characterization and constitutive modeling of the mechanical behavior of the human trachea // Med. Eng. Phys. 2010. V. 32. P. 76–82.
3. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Висща Школа, 1983. С. 83–101.
4. Гюсан, А.О., Гюсан С.А. Этиология стеноза гортани и трахеи у больных реанимационного отделения // Российская оториноларингология. 2004. № 5. С. 64–66.
5. Кузнецова, В.К., Любимов Г.А., Шарифовский Б.Б. Изменения механизма дыхания при стенозах шейного отдела трахеи. Современные проблемы клинической физиологии дыхания. Л., 1987. С. 117–122.
6. Горяинов Д.А. Экспериментальное обоснование двухэтапного замещения обширных дефектов трахеи сетчатым протезом: дис... канд. мед. наук. Курск: 2014. 144 с.
7. Delaere P.R. Tracheal transplantation // Curr. Opin. Pulm. Med. 2012. Vol. 18. P. 313–20.
8. Киселевский М.В., Ситдикова С.М., Тенчурин Т.Х. и др. Современные подходы и перспективы создания биоимплантата трахеи // Российский биотерапевтический журнал. 2014. № 3. С. 127–131.
9. Киселевский М.В., Анисимова Н.Ю., Лебединская О.В. и др. Гетеротопная трансплантация неиммуногенной трахеи, заселенной костно-мозговыми стромальными стволовыми клетками реципиента // Морфология. 2012. № 1. С. 66–70.
10. Киселевский М.В., Ситдикова С.М., Анисимова Н.Ю. и др. Перспективные синтетические матриксы для реконструкции дефектов трахеи у онкологических больных. Вопросы онкологии. 2015. Т. 61, № 3. С. 323–328.
11. Sato T., Araki M., Nakajima N. et al. Biodegradable polymer coating promotes the epithelialization of tissue-engineered airway prostheses // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2010. Vol. 139. P. 26–31.
12. Macchiarini P., Jungebluth P., Go T., Asnaghi M.A. et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway // Lancet. 2008. V. 372. P. 2023–2030.
13. Delaere P., Vranckx J., Verleden G. et al. Tracheal allotransplantation after withdrawal of immunosuppressive therapy // N Engl J Med. 2010. Vol. 362. P. 138–145.
14. Birchall M., Macchiarini P. Airway transplantation: a debate worth having? // Transplantation. 2008. Vol. 85. P. 1075–1080.
15. Del Gaudio C., Baiguera S., Ajalloueian F. et al. Are synthetic scaffolds suitable for the development of clinical tissue-engineered tubular organs? // J. Biomed. Mater. Res. 2014. Vol. 102. P. 2427–2447.
16. Haag J., Baiguera S., Jungebluth P. et al. Biomechanical and angiogenic properties of tissue-engineered rat trachea using genipin cross-linked decellularized tissue // Biomaterials. 2012. Vol. 33. P. 780–789.
17. Murgu, S.D., Colt, H.G. Treatment of adult tracheobronchomalacia and excessive dynamic airway collapse: an update // Treatments in Respiratory Medicine. 2006. Vol. 5. P. 103–115.
18. Ajalloueian F., Lim M. L., Lemon G., Haag J. C. et al. Biomechanical and biocompatibility characteristics of electrospun polymeric tracheal scaffolds // Biomaterials. 2014. Vol. 35. P. 5307–5315.
19. Teng Z., Ochoa I., Lic Z., Lin Y., Rodriguez J. F. et al. Nonlinear mechanical property of tracheal cartilage: A theoretical and experimental study // Journal of Biomechanics 2008. Vol. 41. P. 1995–2002.
20. Teng Z., Trabelsi O., Ochoa I., He J. et al. Anisotropic material behaviours of soft tissues in human trachea: An experimental study an

- experimental study // Journal of Biomechanics. 2012. Vol. 45. P. 1717–1723.
21. da Silva T.H. G., Pazetti R., Aoki F.G. et. al. Assessment of the mechanics of a tissue-engineered rat trachea in an image-processing environment // Clinics. 2014. Vol. 69. P. 500–503.
22. Малкин А.Я., Аскадский А.А., Коврига В.В. Методы измерения механических свойств полимеров. М.: Химия, 1978. 336 с.

Mechanical properties of synthetic matrices trachea based on polymeric ultrafibrous material

M. V. Kiselevskiy¹, N. Yu. Anisimova¹, A. D. Shepelev², T. H. Tenchurin²,
V. G. Mamagulashvili², S. V. Krasheninnikov², T. E. Grigorev², S. N. Chvalun²,
M. I. Davidov¹

¹Federal State Budgetary Scientific Institution N.N. Blokhin "Russian Cancer Research Center"
Russia, 115478, Moscow, Kashirskoe sh., 24
kisele@inbox.ru; 8 (499)-324-27-94

²National Research Centre "Kurchatov Institute"
Russia, 123182, Moscow, Akademika Kurchatova pl., 1

There have been studies of the mechanical properties of tracheal scaffolds based on polymer ultra-fibrous material reinforced polyurethane semirings. It was found no significant differences in the strength and flexibility between synthetic matrix and native trachea. Developed technological approaches using electrospinning and thermo-pressing techniques allows to obtain biocompatible polymer-based medical supplies tracheal matrices by their configurational, structural and mechanical properties similar to those of native trachea.

Key words: *synthetic tracheal matrices; mechanical properties; the polymeric ultra-fibrous material.*