

ИВАНОВ А. Н., КОЗАДАЕВ М. Н.,  
ПУЧИНЬЯН Д. М., САЛКОВСКИЙ Ю. Е.,  
НОРКИН И. А.

## Изменения микроциркуляции при стимуляции регенерации тканей скаффолдом на основе поликапролактона

Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии  
410002, Россия, г. Саратов, ул. Чернышевского, 148  
e-mail: lex558452@rambler.ru

### Реферат

**Цель работы** — оценка изменений микроциркуляции кожи, возникающих при подкожной имплантации скаффолда на основе поликапролактона (ПКЛ) у белых крыс.

**Материал и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 3 группах белых крыс: сравнения — животные, подвергнутые оперативному вмешательству в объеме, соответствующем имплантации матрицы; отрицательного контроля — животные, которым подкожно имплантировали матрицу, не обладающую биосовместимостью; и опытной — крысы, которым подкожно имплантировали ПКЛ-скаффолд. Микроциркуляцию кожи изучали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) на 7-е, 14-е и 21-е сутки. Для верификации биосовместимости скаффолдов проводили морфологическое исследование препаратов комплекса мягких тканей и матрицы на 21-е сутки эксперимента.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Установлено, что у животных группы сравнения умеренное повышение перфузии кожи над областью оперативного вмешательства не сопровождается изменением активных механизмов модуляции кровотока и полностью купируется к 21-м суткам эксперимента. У животных группы отрицательного контроля перфузия кожи над областью имплантации в 2 раза превышает контрольный уровень в период с 7-х по 21-е сутки эксперимента, что сопровождается значимым увеличением амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний микрокровоотока. При морфологическом исследовании у этих животных обнаружена активная воспалительная реакция. В опытной группе изменения перфузии сопоставимы с таковыми в группе сравнения и полностью нивелируются к 21-м суткам эксперимента. Данные морфологического исследования свидетельствуют, что на 21-е сутки эксперимента ПКЛ-скаффолд равномерно заселен клетками соединительной ткани и васкуляризован. При этом реактивные изменения окружающих тканей не выявлены.

**Выводы.** Изменения микрокровоотока кожи над областью имплантации скаффолда соответствуют морфологической картине тканевых реакций, что позволяет использовать ЛДФ для динамической оценки биосовместимости скаффолдов в ходе субкутанных имплантационных тестов. Полученные данные свидетельствуют о хорошей биосовместимости скаффолда на основе ПКЛ, что определяет перспективы его использования в тканевой инженерии.

**Ключевые слова:** скаффолд, биосовместимость, микроциркуляция, поликапролактон.

### Введение

Стимуляция регенерации поврежденных тканей в настоящее время является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. Одним из интенсивно развивающихся в рамках данного направления подходов является имплантация биодеградируемых матриц, которые могут выступать в качестве субстрата для заселения собственными клетками организма из перифокальной зоны дефекта, а другим — имплантация тканеинженерных конструкций, содержащих культивированные клетки в условиях *in vitro* [13].

В области травматологии и ортопедии особое значение имеет разработка новых подходов к стимуляции регенерации суставного гиалинового хряща на основе методов тканевой инженерии [5, 8, 9, 12].

Следует отметить, что применение культивированных *in vitro* хондроцитов с последующей имплантацией представляет более сложную задачу по сравнению с использованием «пустых» матриц [11].

Это подчеркивает практическую значимость разработки матриц, которые могут быть использованы для стимуляции регенерации суставного хряща [4].

Для создания скаффолдов используется обширный спектр материалов, имеющих как природное, так и искусственное происхождение [1]. В настоящее время определен ряд характеристик, предъявляемых к материалу для их изготовления, основным из которых является биологическая совместимость [4]. Отсутствие цитотоксических эффектов поликапролактона (ПКЛ), хорошая адгезия и пролиферация клеток на матрицах из этого материала в условиях *in vitro* определяют перспективы его использования в тканевой инженерии [10, 12]. В этой связи лабораторией «Материалы специального назначения» Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского были разработаны и изготовлены оригинальные скаффолды на основе ПКЛ для стимуляции регенерации хрящевой ткани.

Одним из важных этапов оценки биосовместимости скаффолдов в условиях *in vivo* является проведение имплантационных тестов, в частности, гетеротопической имплантации скаффолда крысам в подкожную клетчатку [6].

Принимая во внимание тот факт, что система микроциркуляции динамически изменяется при сдвигах гомеостаза [2], то есть, по сути, является «зеркалом» функционального состояния ткани, перспективным для оценки реакции на имплантацию скаффолда представляется использовать параметры тканевой перфузии.

Учитывая вышеизложенное, целью исследования явилась оценка изменений микроциркуляции кожи, возникающих при подкожной имплантации скаффолда на основе ПКЛ у белых крыс.

### Материал и методы исследования

Исследования выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой 200–250 г, которые были разделены на 3 группы: 1-я группа — группа сравнения (ложнооперированные животные); 2-я группа — крысы, которым имплантировали скаффолд на основе ПКЛ с адсорбированным на нем чужеродным белком (отрицательный контроль — скаффолд, не обладающий биосовместимостью); 3-я группа — животные, которым была выполнена подкожная имплантация ПКЛ-скаффолда.

Исследования проведены в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном отношении к животным. За 5 мин до проведения манипуляций животным вводили внутримышечно комбинацию золетила (Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 0,1 мл/кг и ксилазина (Interchemie, Нидерланды) в дозе 1 мг/кг для достижения наркоза. Белым крысам 2-й и 3-й групп в межлопаточную область (в область холки) имплантировали подкожно скаффолд в форме диска диаметром 15 мм, толщиной 0,1 мм, по методике, аналогичной изложенной в [7]. У животных 1-й группы проводили оперативное вмешательство, соответствующего объема, но без имплантации скаффолда.

Микроциркуляцию исследовали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью анализатора «ЛАКК-ОП» (производство НПП «Лазма», Россия). Световодный зонд фиксировали на коже над областью имплантации скаффолда. Длительность записи составляла 8 мин. Проводилось определение показателя перфузии (М) в перфузионных единицах (пф. ед.), а также нормированных амплитуд эндотелиальных (0,01–0,076 Гц), нейрогенных (0,076–0,2 Гц) и миогенных (0,2–0,74 Гц) осцилляций микрокровотока с помощью спектрального вейвлет-анализа. Регистрация ЛДФ-грамм осуществлялась на 7-й, 14-й и 21-й день эксперимента соответственно. В качестве контроля использовали ЛДФ-граммы, зарегистрированные у животных до оперативного вмешательства (интактные животные).

На 21-е сутки животные были выведены из эксперимента путем декапитации. С целью верификации выполнено морфологическое исследование мягких тканей области имплантации скаффолда или имитации имплантации.

Материал для морфологического исследования фиксировали в 10 %-м растворе нейтрального формалина (ООО «Биовитрум», Россия), обезжизняли в спиртах восходящей крепости, после чего для выполнения срезов препараты заливали в парафин. Срезы толщиной 5–10 мкм окрашивали гематоксилином Майера (ООО «Биовитрум», Россия) и эозином (ООО «Биовитрум», Россия). Для покрытия срезов применяли Bio-Monht и Bio-Clear (Bio Optica, Италия). Исследование микропрепаратов проводили при помощи микроскопа AxioImager Z2 (CarlZeiss, Германия). При микроскопии оценивали реактивные изменения мягких тканей, окружающих скаффолд, и динамику его заселения клеточными элементами.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы «Statistica 10». Большинство полученных данных не соответствовали закону нормального распределения, поэтому для сравнения показателей использовали U-критерий Манна–Уитни. Значимыми считали изменения при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

В результате проведенного исследования установлено, что у животных группы сравнения на 7-е сутки эксперимента происходит статистически значимое увеличение перфузионного показателя в среднем на 27 % относительно исходного уровня (табл. 1). Нормированные амплитуды эндотелиальных, миогенных и нейрогенных колебаний не претерпевают статистически значимых изменений (табл. 1). Все показатели ЛДФ-грамм у животных группы сравнения на 14-е и 21-е сутки эксперимента находятся в пределах вариабельности контрольных значений (табл. 1).

В результате морфологического исследования на 21-е сутки эксперимента у животных данной группы выявлено умеренное кровенаполнение сосудов микроциркуляторного русла подкожной клетчатки, что подтверждает данные лазерной доплеровской флоуметрии. Патологических изменений тканей в области имитации имплантации скаффолда не обнаружено.

В результате проведенных исследований установлено, что после имплантации ПКЛ-матриц, содержащих чужеродный белок, на 7-е сутки эксперимента происходит значительное (на 80 % контрольной величины) увеличение перфузионного показателя и нормированных амплитуд миогенных и нейрогенных колебаний кровотока (табл. 2).

На 14-е сутки после имплантации матриц, содержащих чужеродный белок, перфузионный показатель в среднем в 2 раза превышает исходный (табл. 2). У животных данной группы абсолютные амплитуды миогенных колебаний кровотока на 14-е сутки после имплантации скаффолдов, содержащих чужеродный белок, статически значимо выше исходного уровня (табл. 2). Однако при этом обнаружена высокая вариабельность нормированных амплитуд нейрогенных колебаний, которая в значительной степени перекрывает квартиль диапазоны соответствующих показателей контрольной группы и данных, полученных на 7-е сутки после имплантации (табл. 2).

В ходе проведенных исследований установлено,

Изменения показателей микроциркуляции кожи у животных группы сравнения

Таблица 1

Группа	М, пф. ед.	Нормированная амплитуда колебаний, отн. ед.		
		эндотелиальных	нейрогенных	миогенных
Контроль (n=30)	10,2 (9,30; 11,1)	18,2 (14,65; 22,5)	5,94 (5,15; 6,69)	6,25 (5,89; 6,88)
7-е сутки (n=10)	13,25(12,7; 13,8) p <sub>1</sub> =0,000791	18,74 (15,46; 10,08) p <sub>1</sub> =0,579100	6,02 (5,49; 76,88) p <sub>1</sub> =0,657216	6,21 (5,02; 7,82) p <sub>1</sub> =1,000000
14-е сутки (n=10)	12,4 (9,4; 12,6) p <sub>1</sub> =0,085512; p <sub>2</sub> =0,049367	16,84 (11,8; 20,32) p <sub>1</sub> =0,405381; p <sub>2</sub> =0,820596	5,48 (4,96; 6,08) p <sub>1</sub> =0,318057; p <sub>2</sub> =0,256840	7,10 (6,43; 7,84) p <sub>1</sub> =0,052205; p <sub>2</sub> =0,226477
21-е сутки (n=10)	10,4 (8,75; 11,85) p <sub>1</sub> =0,948533; p <sub>2</sub> =0,004466; p <sub>3</sub> =0,075561	18,23 (11,93; 21,7) p <sub>1</sub> =0,561276; p <sub>2</sub> =0,722283; p <sub>3</sub> =0,789810	5,56 (5,09; 6,87) p <sub>1</sub> =0,846451; p <sub>2</sub> =0,656854; p <sub>3</sub> =0,722283	6,79 (5,39; 8,57) p <sub>1</sub> =0,401388; p <sub>2</sub> =0,477197; p <sub>3</sub> =1,000000

Примечание: здесь и далее в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили (25 %; 75 %); p<sub>1</sub>, p<sub>2</sub>, p<sub>3</sub> — по сравнению с контролем, 7-ми и 14-ми сутками после операции соответственно.

Изменения показателей микроциркуляции кожи у белых крыс группы отрицательного контроля

Таблица 2

Группа	М, пф. ед.	Нормированная амплитуда колебаний, отн. ед.		
		эндотелиальных	нейрогенных	миогенных
Контроль (n=30)	10,2 (9,30; 11,1)	18,2 (14,65; 22,5)	5,94 (5,15; 6,69)	6,25 (5,89; 6,88)
7-е сутки (n=10)	18,05 (16,1; 19,7) p <sub>1</sub> =0,000032	15,49 (13,37; 19,16) p <sub>1</sub> =0,085512	7,86 (7,28; 8,77) p <sub>1</sub> =0,003283	9,56 (8,98; 14,3) p <sub>1</sub> =0,000584
14-е сутки (n=10)	20,65 (18,2; 26,2) p <sub>1</sub> =0,000108; p <sub>2</sub> =0,109746	18,31 (9,83; 21,44) p <sub>1</sub> =0,366157; p <sub>2</sub> =0,423902	7,41 (5,35; 10,89) p <sub>1</sub> =0,137639; p <sub>2</sub> =1,000000	9,34 (7,57; 12,9) p <sub>1</sub> =0,000789; p <sub>2</sub> =0,656854
21-е сутки (n=10)	21,05 (15,9; 27,8) p <sub>1</sub> =0,000032; p <sub>2</sub> =0,623177; p <sub>3</sub> =0,656854	17,70 (16,91; 18,7) p <sub>1</sub> =0,437407; p <sub>2</sub> =0,226477; p <sub>3</sub> =0,722283	9,52 (7,67; 10,2) p <sub>1</sub> =0,000162; p <sub>2</sub> =0,173618; p <sub>3</sub> =0,593955	9,93 (9,20; 10,7) p <sub>1</sub> =0,000040; p <sub>2</sub> =0,879829; p <sub>3</sub> =0,656854

что на 21-е сутки с момента имплантации матрицы с чужеродным белком не обнаружено тенденции к снижению перфузионного показателя относительно 14-х суток (табл. 2). При этом выявлено, что нормированные амплитуды нейрогенных и миогенных колебаний на 21-е сутки с момента имплантации матрицы с чужеродным белком статистически значимо превышают исходный уровень (табл. 2).

В ходе морфологического исследования у животных группы отрицательного контроля на 21-е сутки эксперимента обнаружены отек, полнокровие сосудов, инфильтрация перифокальной зоны клетками лейкоцитарного ряда (преимущественно нейтрофилами). В отдельных участках отмечаются мелкоочаговые кровоизлияния и диapedез эритроцитов. На 21-е сутки вокруг скаффолда формируется барьер, состоящий из грануляционной ткани, инфильтрированный лейкоцитами. В составе скаффолда преобладают лейкоциты, выявляется небольшое количество фибробластов и фиброцитов, в отдельных зонах наблюдаются единичные сосуды микроциркуляторного русла.

Таким образом, у животных группы отрицательного контроля в зоне имплантации скаффолда, не обладающего биосовместимостью, на 21-е сутки эксперимента обнаружена активная воспалительная

реакция, что является морфологическим подтверждением микроциркуляторных изменений, выявленных с помощью ЛДФ.

У животных, которым проводилась имплантация ПКЛ-скаффолда, на 7-е сутки от начала эксперимента перфузионный показатель увеличен на 15 % относительно контрольной величины, при этом отсутствуют значимые изменения активных механизмов модуляции кровотока (табл. 3). Вместе с тем перфузионный показатель и нормированные амплитуды миогенных колебаний у животных данной группы на 7-е сутки эксперимента также не имеют статистически значимых различий с группой сравнения, но статистически значимо отличаются от данных отрицательного контроля в те же сроки исследования (табл. 3).

На 14-е и 21-е сутки после имплантации ПКЛ-скаффолда все показатели ЛДФ-грамм не имеют статистически значимых различий с контролем (табл. 3). При этом перфузионный показатель и нормированные амплитуды миогенных колебаний не имеют значимых различий как по сравнению с исходным уровнем, так и с группой сравнения, и статистически значимо ниже, чем у животных группы отрицательного контроля в те же сроки наблюдения (табл. 3).

В ходе морфологического исследования препаратов области имплантации ПКЛ-скаффолда



## Изменения показателей микроциркуляции кожи у белых крыс при подкожной имплантации скаффолда на основе ПКЛ

Таблица 3

Группа	М, пф. ед.	Нормированная амплитуда колебаний, отн. ед.		
		эндотелиальных	нейрогенных	миогенных
Контроль (n=30)	10,2 (9,30; 11,1)	18,2 (14,65; 22,5)	5,94 (5,15; 6,69)	6,25 (5,89; 6,88)
7-е сутки (n=10)	12,9 (12,5; 13,4) $p_1=0,003589$ $p_c=0,405680$ $p_{ok}=0,000157$	19,64 (17,78; 21,07) $p_1=0,697802$ $p_c=0,173618$ $p_{ok}=0,012612$	6,13 (5,08; 8,43) $p_1=0,405381$ $p_c=0,762369$ $p_{ok}=0,256840$	7,01 (5,92; 8,78) $p_1=0,183098$ $p_c=0,256840$ $p_{ok}=0,008151$
14-е сутки (n=10)	12,1 (11,1; 12,3) $p_1=0,057686$ $p_2=0,009545$ $p_c=0,485289$ $p_{ok}=0,000172$	21,0 (19,55; 23,34) $p_1=0,332922$ $p_2=0,248058$ $p_c=0,469837$ $p_{ok}=0,441869$	6,25 (4,89; 8,38) $p_1=0,605577$ $p_2=0,789810$ $p_c=0,803189$ $p_{ok}=0,790080$	7,63 (4,98; 8,07) $p_1=0,272491$ $p_2=0,593955$ $p_c=0,485289$ $p_{ok}=0,045962$
21-е сутки (n=10)	11,5(11,3; 11,9) $p_1=0,088082$ $p_2=0,021600$ $p_3=0,241461$ $p_c=0,298596$ $p_{ok}=0,000035$	17,80 (14,23; 20,77) $p_1=0,406976$ $p_2=0,327188$ $p_3=0,187684$ $p_c=0,956371$ $p_{ok}=0,358129$	5,90 (4,04; 7,17) $p_1=0,965189$ $p_2=0,462433$ $p_3=0,769698$ $p_c=0,584325$ $p_{ok}=0,645898$	4,75 (4,61; 6,14) $p_1=0,205634$ $p_2=0,220672$ $p_3=0,558185$ $p_c=0,956371$ $p_{ok}=0,001299$

Примечание:  $p_1$  — по сравнению с контролем;  $p_2, p_3$  — по сравнению с 7-ми и 14-ми сутками в данной группе;  $p_c$  — по сравнению с группой сравнения;  $p_{ok}$  — в сравнении с отрицательным контролем в тот же срок эксперимента.

выявлено умеренное кровенаполнение сосудов микроциркуляторного русла. Отека и инфильтрации перифокальной зоны, в отличие от группы отрицательного контроля, у животных данной группы не выявлено. Следовательно, морфологическая картина соответствует динамике показателей ЛДФ-грамм и свидетельствует об отсутствии при имплантации матрицы на основе ПКЛ выраженных реактивных изменений окружающих тканей.

Матрица на основе ПКЛ равномерно заселена фибробластами и фиброцитами. В структуре скаффолда обнаруживаются единичные нейтрофилы, макрофаги и лимфоциты. Отмечается интенсивная васкуляризация скаффолда с умеренным кровенаполнением образовавшихся сосудов.

### Обсуждение результатов исследования

Полученные данные свидетельствуют, что оперативное вмешательство у животных группы сравнения вызывает умеренное повышение перфузионного показателя, максимально выраженное на 7-е сутки эксперимента, не сопровождающееся изменениями активных механизмов модуляции кровотока и полностью исчезающее к 21-му дню. Полную нормализацию микроциркуляции к 21-м суткам после оперативного вмешательства подтверждают данные морфологического исследования.

Обнаружено, что изменения кровотока кожи над областью имплантации скаффолда, содержащего чужеродный белок, проявляются статистически значимым увеличением перфузионного показателя в 2 раза в период с 7-х по 21-е сутки и сопровождается изменением активных механизмов модуляции кровотока. Повышение амплитуд миогенных колебаний является проявлением накопления в ткани разнообразных медиаторов воспаления, оказываю-

щих выраженный вазодилататорный эффект, а также ацидоза и гипоксии тканей и свидетельствует о снижении мышечного тонуса прекапилляров, что, в свою очередь, влечет за собой увеличение притока крови в нутритивное русло [3]. Увеличение амплитуд осцилляций в нейрогенном диапазоне указывает на снижение сопротивления артериол [3].

Снижение тонуса артериол и прекапилляров при повышенной перфузии отображает гиперемический тип микроциркуляции [3], что связано с процессом воспаления в области имплантации матрицы с чужеродным белком. Развитие активной воспалительной реакции подтверждается морфологической картиной препаратов области имплантации скаффолда, не обладающего биосовместимостью, на 21-е сутки эксперимента.

Полученные результаты свидетельствуют, что при имплантации ПКЛ-скаффолда возникают транзиторные изменения перфузии кожи над областью его имплантации, однако выраженность сдвигов перфузии и модуляции кровотока не превышает таковые у ложнооперированных животных. Морфологическая картина препаратов комплекса скаффолда и окружающих его мягких тканей соответствует динамике показателей кожного кровотока над областью имплантации и доказывает, что воспалительные изменения в перифокальной зоне отсутствуют на 21-й день эксперимента. Интенсивное заселение клетками соединительной ткани и васкуляризация скаффолда согласуются с результатами оценки биосовместимости в условиях *in vitro*, которые свидетельствуют о хорошей адгезии и пролиферации клеток, культивируемых на подобных матрицах [12].

Таким образом, изменения кровотока кожи над областью имплантации скаффолда соответствуют морфологической картине тканевых реакций, что

позволяет использовать метод лазерной доплеровской флоуметрии для динамической оценки биосовместимости скаффолдов в ходе субкутанных имплантационных тестов.

Данные ЛДФ подтверждаются результатами морфологического исследования и свидетельствуют о хорошей биосовместимости скаффолда на основе ПКЛ, что определяет перспективы его использования в тканевой инженерии

## Литература

1. Иванов А. Н., Норкин И. А., Пучиньян Д. М. Возможности и перспективы использования скаффолд-технологий для регенерации костной ткани // *Цитология*. 2014. Т. 56. № 8. С. 543–548.
2. Иванов А. Н., Федонников А. С., Норкин И. А. и др. Коррекция микроциркуляторных нарушений в стратегиях менеджмента остеоартрита и остеохондропатий // *Росс. мед. журн.*. 2015. Т. 21. № 1. С. 18–23.
3. Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: рук-во для врачей. М.: Медицина, 2005.
4. Новочадов В. В. Проблема управления клеточным заселением и ремоделированием тканеинженерных матриц для восстановления суставного хряща // *Вестник Волгоград. гос. ун-та*. 2013. Т. 1. № 5. С. 19–28.
5. Dhollander A. A., Liekens K., Almqvist K. F. et al. A pilot study of the use of an osteochondral scaffold plug for cartilage repair in the knee and how to deal with early clinical failures // *Arthroscopy*. 2012. № 28. P. 225–233.
6. Dorj B., Won J. E., Kim J. H. et al. Robocasting nanocomposite scaffolds of poly (caprolactone) hydroxyapatite incorporating modified carbon nanotubes for hard tissue reconstruction // *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2013. Vol. 101. № 6. P. 1670–1681.
7. Grigolo B., Roseti L., Fiorini M. et al. Transplantation of chondrocytes seeded on hyaluronan derivative (HyaFF (R) -11) into cartilage defects in rabbits // *Biomaterials*. 2001. Vol. 22. P. 2417–2424.
8. Kandel R. A., Grynepas M., Pilliar R. et al. Repair of osteochondral defects with biphasic cartilage-calcium polyphosphate constructs in a sheep model // *Biomaterials*. 2006. Vol. 27. P. 4120–4131.
9. Lotfi M., Ghasemi N., Rahimi S. et al. A comprehensive literature review // *Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. 2013. Vol. 7. № 3. P. 119–130.
10. Nejadnik H., Hui J. H., Feng Choong E. P. et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus autologous chondrocyte implantation: an observation cohort study // *Am. J. Sports Med.* 2010. Vol. 38. P. 1110–1116.
11. Niederauer G. G., Slivka M. A., Leatherbury N. C. et al. Evaluation of multiphase implants for repair of focal osteochondral defects in goats // *Biomaterials*. 2000. Vol. 21. P. 2561–2574.
12. Schagemann J. C., Chung H. W., Mrosek E. H. et al. Poly-epsilon-caprolactone/gel hybrid scaffolds for cartilage tissue engineering // *Biomed. Mater. Res. A*. 2010. Vol. 93. № 2. P. 454–463.
13. Yamashita A., Liu S., Woltjen K. et al. Cartilage tissue engineering identifies abnormal human induced pluripotent stem cells // *3 Scientific Reports* 2013, Article ID. 1978; <http://www.nature.com/srep/2013/130613/srep01978/full/srep01978.html>. DOI:10.1111/accel.12182

UDK 616–003.93:612.135

**Ivanov A. N., Kozadaev M. N., Puchin'yan D. M., Sal'kovskii Yu. E., Norkin I. A.**

## Microcirculatory changes during stimulation of tissue regeneration by polycaprolactone scaffold

*Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics  
410002, Chernyshevskogo str. 148. Saratov, Russia  
e-mail: lex558452@rambler.ru*

### Abstract

**The purpose of the study.** The estimation of skin microcirculatory changes appearing in rats after subcutaneous implantation of polycaprolactone (PCL) scaffolds.

**Materials and methods.** The experiments were conducted on 3 groups of rats: comparison group — the animals exposed to surgical intervention to the extent equivalent to matrix implantation, negative control group — animals subcutaneously implanted with non-biocompatible matrix; and experimental — rats subcutaneously implanted by PCL-scaffold. Skin microcirculation was analyzed by Lazer Doppler flowmetry (LDF) on the 7th, 14th and 21st day of the experiment. Morphological analysis of soft tissue complex and matrix samples was carried out on the 21st day of the experiment for scaffold biocompatibility verification.

**Results.** It has been found that moderate increase in skin perfusion of animals in the comparison group over the surgical intervention area is not accompanied by the changes of active mechanisms of blood flow modulation and is completely resolved by the 21st day of the experiment. In negative control group, skin perfusion over the implantation area is 2 times higher than in controls in the period from 7th to 21st day of the experiment and this is accompanied by the significant increase of neurogenic and myogenic blood flow oscillation amplitudes. In the course of morphological analysis, these animals have demonstrated active inflammatory response. In the experimental group, perfusion changes are comparable with those in the comparison group and they resolve completely by the 21st day of the experiment.

Morphological analysis suggests that by the 21st day of the experiment PLC-scaffold is evenly colonized by connective tissue cells and is vascularized. At the same time, reactive changes of adjacent tissues have not been detected.

**Conclusion.** Skin microcirculatory changes over the scaffold implantation area correspond to the morphological pattern of tissue reactions which allows using LDF for dynamic estimation of scaffold biocompatibility in the course of subcutaneous implantation tests. This data suggest good PLC-scaffold biocompatibility which proves the prospects of its practical application in the tissue engineering.

**Keywords:** scaffold, biocompatibility, microcirculation, polycaprolactone.

## References

1. Ivanov A.N., Norkin I.A., Puchinyan D.M. The possibilities and perspectives of using scaffold technology for bone regeneration // *Cytology*. 2014. T. 56. № 8. P. 543-548. [In Russian].
2. Ivanov A.N., Fedonnikov A.S., Norkin I.A. et al. Correction of microcirculatory disorders in management strategies of osteoarthritis and osteochondropathy // *Russian Medical Journal*. 2015. T. 21. №1. P. 18-23. [In Russian].
3. Krupatkin A.I., Sidorov V.V. Lazernaja dopplerovskaja floumetrija mikrocirkuljacii krovi. Rukovodstvo dlja vrachej. [Laser Doppler floumetry of blood microcirculation. The manual for doctors] // Moscow: Medicina 2005. [In Russian].
4. Novochadov V.V., The control of the cell settlement and scaffold remodeling in cartilage tissue engineering: a review// *Science Journal of Volgograd State University. Natural sciences*. 2013. T. 1. № 5. P.19-28. [In Russian].
5. Dhollander A.A., Liekens K., Almqvist K.F. et al. A pilot study of the use of an osteochondral scaffold plug for cartilage repair in the knee and how to deal with early clinical failures // *Arthroscopy*. 2012. № 28. P. 225-233.
6. Dorj B., Won J.E., Kim J.H. et al. Robocasting nanocomposite scaffolds of poly (caprolactone) hydroxyapatite incorporating modified carbon nanotubes for hard tissue reconstruction // *J Biomed Mater Res A*. 2013. Vol. 101. № 6. P. 1670-1681.
7. Grigolo B., Roseti L., Fiorini M. et al. Transplantation of chondrocytes seeded on hyaluronan derivative (Hya<sup>ff</sup> (R) -11) into cartilage defects in rabbits // *Biomaterials*. 2001. Vol. 22. P.2417-2424.
8. Kandel R.A., Grynepas M., Pilliar R. et al. Repair of osteochondral defects with biphasic cartilage-calcium polyphosphate constructs in a sheep model // *Biomaterials*. 2006. Vol. 27. P. 4120-4131.
9. Lotfi M., Ghasemi N., Rahimi S. et al. A comprehensive literature review // *Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. 2013. Vol. 7. № 3. P. 119-130.
10. Nejadnik H., Hui J.H., FengChoong E.P. et al. Autologus bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus autologus chondrocyte implantation: an observation cohort study // *Am J Sports Med*. 2010. Vol. 38. P.1110-1116.
11. Niederauer G.G., Slivka M.A., Leatherbury N.C. et al. Evaluation of multiphase implants for repair of focal osteochondral defects in goats // *Biomaterials*. 2000. Vol. 21. P. 2561-2574.
12. Schagemann J.C., Chung H.W., Mrosek E.H. et al. Poly-epsilon-caprolactone/gel hybrid scaffolds for cartilage tissue engineering // *Biomed Mater Res A*. 2010. Vol. 93. № 2. P. 454-463.
13. Yamashita A., Liu S., Woltjen K. et al. Cartilage tissue engineering identifies abnormal human induced pluripotent stem cells // *3 Scientific Reports* 2013, Article ID. 1978; <http://www.nature.com/srep/2013/130613/srep01978/full/srep01978.html>. DOI: 10.1111/accel.12182