

Применение замораживания и гамма-облучения для создания сосудистых ксеноскаффолдов

Д.В. БЫЗОВ, Б.П. САНДОМИРСКИЙ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Application of Freezing and Gamma-Radiation to Create Vascular Xenoscaffolds

D.V. BYZOV, B.P. SANDOMIRSKY

Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

В настоящее время в кардиоваскулярной тканевой инженерии разрабатываются методики использования бесклеточных ксеногенных тканей в качестве каркасов биоконструкций. Механические характеристики скаффолдов, степень их иммуногенности и полученные результаты связаны с применяемым методом девитализации. Детергентно-энзимная обработка значительно снижает упругоэластические свойства сосудистых скаффолдов, вызывает агрегацию тромбоцитов за счет формирования стойких связей с коллагеновыми волокнами.

Цель работы – изучение влияния низких температур и гамма-излучения на артерии свиньи при создании девитализированных сосудистых скаффолдов малого диаметра (≤ 6 мм).

Внутригрудные и общие сонные артерии выделяли в стерильных условиях у половозрелых свиней в течение 30 мин после забоя с соблюдением правил биоэтики. Препарированные сосуды подвергали воздействию низких температур, после их полного отогревания на водяной бане (37°C) – гамма-облучению. Морфологическую структуру сосудов оценивали с помощью оптической микроскопии ($\times 200$): импрегнация серебром межэндотелиальных границ, окраска гематоксилин-эозином и пикрофуксином по методу Ван-Гизона. В работе оценивали упругоэластические свойства сосудов: определение прочности в продольном (strength-test) и радиальном направлениях под действием внутреннего давления (burst-test).

После воздействия низких температур (погружение в жидкий азот) отмечены обширные деэндотелизированные поля, чередующиеся с участками сохранившейся эндотелиальной выстилки, а также единичные группы эндотелиоцитов. Гамма-облучение вызывает полную деэндотелизацию.

Для каждого коллагенового волокна нативной артерии характерна выраженная извитость, а для охлажденных до -196°C сосудов извитость волокон снижена, они уплотнены и утолщены. Продольная ориентация и структурная целостность коллагеновых и эластиновых волокон сохраняются и после гамма-облучения.

При измерении прочности в продольном и радиальном направлениях статистически значимых ухудшений механических свойств обработанных низкими температурами облученных артерий по сравнению с нативными сосудами не выявлено.

Низкие температуры и гамма-облучение могут быть использованы для девитализации сосудистых ксеноскаффолдов, что является этапом создания биоинженерных сосудистых протезов.

The methods for using acellular xenogenous tissues as the matrix for biological constructs in cardiovascular tissue engineering are developed today. Mechanical parameters of the scaffolds, the degree of their immunogeneity and the application results are directly associated with the devitalization method. Detergent-enzymatic treatment significantly reduces tough-elastic properties of vascular scaffolds, causes aggregation of platelets due to the formation of stable bonds with collagen fibers.

The research aim was to investigate the effect of low temperatures and gamma-radiation on porcine arteries when creating devitalized vascular scaffolds of small diameter ($d \leq 6$ mm).

Intra-thoracic and common carotid arteries were isolated from mature pigs 30 min later their slaughtering under sterile conditions meeting all the bioethical requirements. The prepared vessels were subjected to the effect of low temperatures and after complete thawing on water bath (37°C) they were gamma-irradiated. Morphology of the vessels was assessed by means of light microscopy ($\times 200$): silver impregnation of inter-endothelial boundaries, staining with hematoxylin-eosin and picrofuchsin according to Van Gieson. In the research we used the methods of estimation of tough-elastic properties of the vessels: strength-test, the determination of vessel longitudinal strength, and burst-test, the examination of vessel strength in radial direction using inner pressure.

After low temperature effect (plunging into liquid nitrogen) we found vast de-endothelized areas, interchanging with the sites of preserved endothelial embedding, as well as single groups of endotheliocytes. Gamma-radiation causes a complete de-endothelization.

Each of collagen fibers of native artery demonstrated the manifested tortuosity, meanwhile in cooled down to -196°C vessels it was reduced, and the fibers were packed and thickened. Longitudinal orientation and structural integrity of collagen and elastin fibers were preserved after gamma-radiation as well.

Measuring of the longitudinal and radial strength did not demonstrate statistically significant decline of mechanical properties of low-temperature-treated irradiated arteries if compared with native vessels.

Low temperatures and gamma-radiation may be used for devitalization of vascular xenoscaffolds that is the stage in designing the bioengineered vascular prostheses.