

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Национальный исследовательский Томский политехнический университет  
Национальный исследовательский Томский государственный университет  
Томский государственный архитектурно-строительный университет  
Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники

## **ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК**

Сборник научных трудов  
XII Международной конференция студентов и молодых ученых

**21–24 апреля 2015 г.**

## **PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT**

XII International Conference of students and young scientists

**21–24 April, 2015**

Томск 2015

УДК 50(063)  
ББК 20л0  
П27

**Перспективы развития фундаментальных наук** [Электронный П27 ресурс] : сборник трудов XII Международной конференция студентов и молодых ученых (Томск, 21–24 апреля 2015 г.) / Томский политехнический университет. – Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2015. – 1556 с.

ISBN 978-5-4387-0560-4

Сборник содержит труды участников XII Международной конференции студентов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук». Включает доклады студентов и молодых ученых, представленные на секциях «Физика», «Химия», «Математика», «Биология и медицина», «Наноматериалы и нанотехнологии», «Технология», «Конкурс архитектурных работ», «IT-технологии и электроника».

Предназначен для студентов, аспирантов, молодых ученых, преподавателей в области естественных наук и высшей математики.

**УДК 50(063)**  
**ББК 20л0**

*Редакционная коллегия*

И.А. Курзина, доктор физико-математических наук, доцент ТПУ.  
Г.А. Воронова, кандидат химических наук, доцент ТПУ.  
С.А. Поробова, инженер ТГАСУ.

**ISBN 978-5-4387-0560-4**

© ФГАОУ ВО НИ ТПУ,  
электронный текст, 2015

**ПОЛУЧЕНИЕ КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА / ГИДРОКСИАПАТИТА И  
ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ**

Е.Г. Шаповалова<sup>1</sup>, Л.А.Рассказова<sup>2</sup>, Д.Н. Лыткина<sup>2</sup>

Научный руководитель: <sup>1</sup>профессор, д.х.н. А.Г. Филимошкин, <sup>2</sup>профессор, д.т.н. В.В. Козик

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: elena.shapovalova@ro.ru

**PREPARATION OF COMPOSITES BASED ON POLYLACTIDE / HYDROXYAPATITE AND  
INVESTIGATION OF THEIR ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY**

Y.G. Shapovalova<sup>1</sup>, L.A. Rasskazova<sup>2</sup>, D.N. Lytkina<sup>2</sup>

Scientific Supervisor: Prof., Dr. A.G. Filimoshkin, Prof., Dr. V.V. Kozik

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: elena.shapovalova@ro.ru

***Annotation.** Relevance of the work is due to the need for new materials that are used in medicine as a substitute for natural bone tissue injuries, fractures, etc. The aim of the work is to obtain and investigate the anti-inflammatory activity porous composites based on poly-L-lactide (PLA) and hydroxyapatite (HA). The effect of PLA, HA, PLA/HA on the activation of inflammatory reactions of primary human monocytes-derived macrophages was investigated. Composite PLA/HA stimulates emission of anti-inflammatory cytokines that indicates the presence of potential anti-inflammatory properties of the composites.*

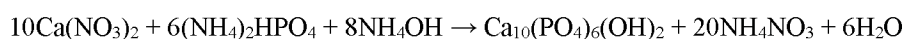
Получение и исследование биокомпозитов, применяемых в медицине в качестве имплантатов, является одним из актуальных направлений современных наук о материалах. Недостатки, возникающие при использовании искусственных имплантатов, зачастую связаны с проблемами биохимической совместимости имплантированных материалов и тканей организма, о чем можно судить по проявлению воспалительных реакций организма на имплантат. В настоящее время активно проводятся разработки биокомпозитов на основе полилактида (ПЛ) и гидроксиапатита (ГА), обладающих всеми требуемыми для применения их в качестве костных заменителей свойствами [1], важнейшими из которых являются близкая к прочности кости механическая прочность и отсутствие отрицательных реакций организма на инородный материал. Кроме того, материалы на основе ПЛ и ГА деградируют со скоростью, достаточной для заживления костного дефекта, а нетоксичные продукты их распада естественным путём выводятся из организма. Важной оценкой биосовместимости синтетических материалов является реакция клеток иммунной системы на композит. Методика [2] позволяет быстро и достоверно оценить наличие воспалительных реакций на материал клеток иммунной системы человека – макрофагов.

Макрофаги и их предшественники – моноциты, присутствуют во многих тканях организма: в костном мозге, в соединительной ткани, в легких, печени, в нервной ткани, в коже. Они играют важную роль в иммунных ответах. Это связано с тем, что внедрение чужеродного агента (имплантата) в организм вызывает, прежде всего, активность макрофагов, выделение цитокинов и других медиаторов воспаления.

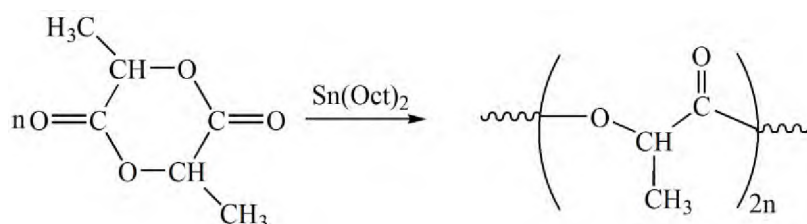
В зависимости от окружения макрофаги могут модифицировать свою активность и исполнять роль про- и противовоспалительных агентов. М1 макрофаги на действие чужеродных агентов отвечают классической активацией, т.е. продукцией цитокинов провоспалительного профиля, для макрофагов М2 характерна альтернативная активация – продуцирование противовоспалительных цитокинов. После контакта клеток иммунной системы с материалом методом иммуноферментного анализа (ИФА) можно определить уровень высвобождаемых цитокинов, что позволяет судить об активации клеток и их реакции на исследуемый материал.

Цель работы заключается как в создании композитов на основе ПЛ и ГА, так и в исследовании их противовоспалительной активности на макрофагах крови человека.

Гидроксиапатит получали жидкофазным способом путем сливания растворов нитрата кальция и гидрофосфата аммония в стехиометрических соотношениях при перемешивании в течение 10 минут и поддержании pH~11 раствором гидроксида аммония. Полученную суспензию обрабатывали СВЧ-излучением и выдерживали в течение 3-х суток, затем фильтровали и высушивали [3]. Реакция протекает согласно уравнению:



Полилактид получали из лактида [4] ионной полимеризацией с раскрытием циклов *L*-лактида в присутствии октаноата олова:



Молекулярную массу полилактида определяли, используя метод капиллярной вискозиметрии и ГПХ. Для определения молекулярной массы использовали нелинейное уравнение Марка-Хувинка:

$$[\eta] = K \times M^\alpha,$$

где  $K=5,45 \cdot 10^{-4}$  дл/г,  $\alpha=0,73$  при  $T=25^\circ\text{C}$  [5].  $M$  полилактида составила 60000. Величина  $M$ , полученная методом ГПХ (растворитель – тетрагидрофуран, прибор фирмы GPC Agilent System) не отличается от этой величины.

Композит ПЛ-ГА получали смешением раствора полилактида в хлороформе и порошка гидроксиапатита, затем полученную суспензию обрабатывали ультразвуком с частотой 40кГц и высушивали до полного испарения растворителя при комнатной температуре.

Биосовместимость и противовоспалительную активность ГА и композитов ПЛ-ГА изучали на клеточно-опосредованный иммунный ответ индивидуальных доноров *in vitro*, используя *CD14+* моноциты человека.

Для исследования воспалительной реакции на материал композитов *in vitro* *CD14+* моноциты крови человека выделяли из лейкоцитарной пленки [2] и культивировали на поверхности образцов в бессывороточной среде в течение 6 дней. Для получения положительного контроля активации моноцитов клетки стимулировали посредством IFN- $\gamma$  при концентрации 100 нг/мл и IL-4 при концентрации 10 нг/мл. В качестве отрицательного контроля использовали чистую культуральную среду без добавления образцов и цитокинов. На 1-е, 3-и и 6-ые сутки культивирования отбирали пробы и

измеряли концентрации TNF- $\alpha$ , CCL18 по методике иммуноферментного анализа. Результаты ИФА представлены на рис. 1.

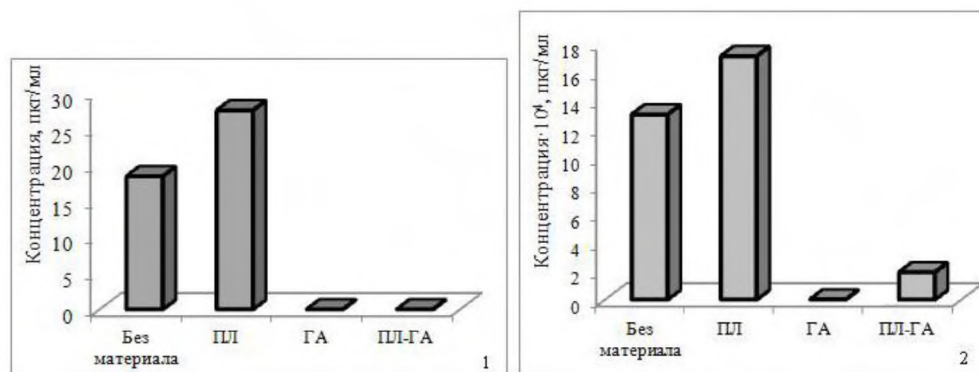


Рис. 1. Влияние ПЛ, ГА и композита ПЛ-ГА на выделение макрофагами: 1 – TNF- $\alpha$  в присутствии IFN- $\gamma$  (1); 2 – CCL18 в присутствии IL-4.

Видно, что незначительное выделение цитокинов провоспалительного типа M1 (~ 25-35 пгт/мл) наблюдается в контрольном образце (без материала) и в присутствии полилактида, в то время как ГА и композит ПЛ-ГА не способствуют их выделению. Выделению противовоспалительных цитокинов типа M2 способствует композит ПЛ/ГА на 6-ой день культивирования, что свидетельствует о проявлении потенциальных противовоспалительных свойств материала.

Таким образом, получены биосовместимые композиты на основе полилактида и гидроксиапатита путем смешения раствора полимера с последующим диспергированием ультразвуком. Композиты ПЛ/ГА в сравнении с чистыми материалами ПЛ, ГА исследовали на клеточно-опосредованный иммунный ответ индивидуальных доноров *in vitro*, используя *CD14+* моноциты человека. Установлено, что чистый полилактид способствует выделению как про-, так и противовоспалительных цитокинов макрофагов. Гидроксиапатит является инертным материалом, не вызывающим выделения цитокинов. Композит ПЛ-ГА стимулирует выделение только противовоспалительного цитокина, что говорит о потенциальном наличии противовоспалительных свойств у композитов.

#### Список литературы

1. Goswami J. Processing and characterization of poly(lactic acid) based bioactive composites for biomedical scaffold application // J. eXPRESS Polymer Letters. – 2013. – V.7. – №7. – P. 767–777.
2. Kzhyshkowska J. Stabilin-1 localizes to endosomes and the trans-Golgi network in human macrophages and interacts with GGA adaptors // J. of Leukocyte Biology. – 2004. – V.76. – P. 1151–1161.
3. Рассказова Л.А. СВЧ-синтез гидроксиапатита и физико-химическое исследование его свойств // Журнал прикладной химии. – 2013. – Т.86. – №5. – С. 744–748.
4. Поздняков М.А. Синтез и идентификация лактида и гликолида // Материалы X международной конференции студентов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук». – Томск. 23–26 апреля, 2013. – С. 421–423.
5. Garlotta D. A literature review of poly(lactic acid) // J. of Polymers and the Environment. – 2001. – V.9. – №2. – P. 63–64.