

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 547.917+576.524+616.381-007.274

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-1-46-55>

Поступила в редакцию 04.09.2018

Received 04.09.2018

А. В. Жура¹, В. И. Куликовская², К. С. Гилевская², А. Н. Красковский²,
С. И. Третьяк¹, В. Е. Агабеков²

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь²Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА И ПЕКТИНОВ В ПРОФИЛАКТИКЕ СПАЙКООБРАЗОВАНИЯ

Аннотация. Проблема лечения и профилактики спаек брюшины остается высокоактуальной и в настоящее время. Одним из способов предотвращения спайкообразования в брюшной полости является применение биodeградируемых гелей и мембран.

Целью исследования являлись разработка и экспериментальная оценка новых биodeградируемых материалов на основе альгинатов и пектинов.

Альгинатный гидрогель изготавливали с 4,0; 7,0 и 10,0 мас. % содержанием альгината натрия. Золи пектинов разной степени этерификации и амидирования синтезировали методом «зеленой химии». Для получения пленок и пористых матриц применяли методы полива (solution casting method) и криоструктурирования (freeze-drying technique). Изготовленные материалы изучали *in vitro* и *in vivo* в эксперименте, оценивая их физические свойства, биосовместимость, биodeградируемость, противоспаечное действие, возможность использования в качестве матрикса для трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Применение 7,0 мас. % альгинатного гидрогеля не вызвало послеоперационных осложнений и привело к образованию спаек только в 10 % случаев (в группе сравнения – в 85,7 %). Полученные методом полива пектиновые пленки деформировались в физиологическом растворе и питательной среде. *In vivo* биodeградации пленок не было, отмечены абсцессы и инфильтраты в брюшной полости. Кроме того, МСК к поверхности таких пленок не прикреплялись. Пористые пектиновые матрицы, полученные путем freeze-drying technique, частично разлагались уже в физиологическом растворе. В эксперименте их биodeградация отмечалась у половины животных с образованием в 25 % невыраженных спаек. При дальнейшем изучении отмечено хорошее приращение МСК к их поверхности, в том числе и внутри пор, с сохранением жизнеспособности клеточной культуры.

Высокая степень биodeградации, хорошая биосовместимость, противоспаечная способность разработанных на основе альгинатного геля и пористых пектиновых матриц материалов свидетельствует о возможности их применения в качестве носителей для клеточных трансплантаций при разработке новых методов лечения перитонеальных спаек.

Ключевые слова: брюшинные спайки, альгинаты, пектины, биodeградация, мезенхимальные стволовые клетки

Для цитирования: Использование биodeградируемых материалов на основе альгината и пектинов в профилактике спайкообразования / А. В. Жура [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2019. – Т. 16, № 1. – С. 46–55. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-1-46-55>

A. V. Zhura¹, V. I. Kulikouskaya², K. S. Hileuskaya², A. N. Kraskouski², S. I. Tretyak¹, V. E. Agabekov²

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus²Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

APPLICATION OF BIODERADABLE MATERIALS BASED ON ALGINATE AND PECTIN TO PREVENT THE FORMATION OF PERITONEAL ADHESIONS

Abstract. Treatment of peritoneal adhesions are still of great importance today. One of the prophylactic measures is biodegradable gels and membranes.

The objective of the investigation was to develop and to experimentally assess new materials based on pectin and alginate.

Alginate hydrogel was prepared with 4.0, 7.0 and 10.0 weight per cent. The pectin sols were synthesized by the “green chemistry” method. To make films and porous membranes the solution casting method and the freeze-drying technique were used accordingly. The materials were studied *in vitro* and *in vivo*. Their physical properties, biocompatibility, biodegradability, adhesion, the prevention effect, the possibility of using as a matrix for mesenchymal stem cell transplantation were assessed.

Alginate hydrogel of 7.0 weight per cent didn't cause postoperative complications and led to low adhesions incidence – in 10 % of cases (in the comparison group – 85.7 %). Pectin films obtained by the solution casting method became deformed already in the physiological solution. Biodegradation of the films was absent in the experiment, abscesses and infiltrates in the abdominal cavity were noted. Mesenchymal stem cells didn't attach to such films. Porous pectin matrices synthesized by the freeze-drying technique became partially decomposed already in the physiological solution. In the experiment, these

membranes were biodegraded in half animals with the formation of mild adhesions only in 25 %. Mesenchymal stem cells showed a good attachment to their surface.

The developed materials based on alginate gel and porous pectin membranes showed a high biodegradation, good biocompatibility, adhesion the prevention effect and the possibility of using as a matrix for stem cells transplantation.

Keywords: peritoneal adhesions, alginate, pectin, biodegradation, mesenchymal stem cells

For citation: Zhura A. V., Kulikouskaya V. I., Hileuskaya K. S., Kraskouski A. N., Tretyak S. I., Agabekov V. E. Application of biodegradable materials based on alginate and pectin to prevent the formation of peritoneal adhesions. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 1, pp. 46–55 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-1-46-55>

Введение. Брюшинные спайки – это заболевание, в основе которого лежит образование сращений органов брюшной полости между собой и брюшной стенкой вследствие повреждения мезотелия висцеральной брюшины при ее травме или воспалительном процессе. Самой частой причиной спайкообразования является операционная травма, при этом ожидаемая частота образования спаек может достигать 40–60 % после лапаротомии и около 15 % после лапароскопических операций [1]. Чаще всего внутрибрюшные сращения не имеют клинических проявлений, однако в ряде случаев возникают тяжелые осложнения и симптоматика, ухудшающие качество жизни пациентов. К таким осложнениям относится в первую очередь острая спаечная кишечная непроходимость, которая в настоящее время является самой частой причиной механической кишечной непроходимости неопухолевого генеза [2]. У некоторых пациентов отмечается симптоматика, связанная со спайкообразованием, в частности хронический абдоминальный болевой синдром и нарушение функции органов брюшной полости, вовлеченных в спаечный процесс. Одной из главных причин бесплодия у женщин являются спайки органов малого таза [3]. В настоящее время проблема лечения и профилактики спаечной болезни не теряет своей актуальности вследствие неудовлетворительных результатов применения существующих методик [4].

Одним из применяемых в настоящее время способов профилактики образования спаек в брюшной полости является использование противоспаечных мембран и гелей. Суть терапевтического эффекта заключается в физическом разграничении поверхностей органов на время, достаточное для мезотелизации дефектов брюшины [5]. По современным представлениям, антиадгезивный препарат должен отвечать следующим критериям: значительно уменьшать или полностью предотвращать спайкообразование, не тормозить процессы заживления, обладать технической легкостью применения и доступностью. Необходимыми свойствами противоспаечных агентов являются биосовместимость – способность встраиваться в организм, не вызывая побочных проявлений с минимальной индукцией тканевого или клеточного ответа, и биodeградируемость – способность резорбцироваться из зоны введения [5]. Поэтому актуальной задачей является разработка новых материалов, обладающих перечисленными свойствами, и оценка эффективности их применения. Одним из способов решения этой задачи может стать использование материалов на основе природных полисахаридов.

Цель исследования – разработать и экспериментально оценить возможности применения биodeградируемых материалов на основе альгината и пектинов в профилактике спайкообразования в брюшной полости.

Материалы и методы исследования. *Изготовление альгинатного гидрогеля.* Для приготовления гидрогеля навеску соли альгината натрия смешивали с культуральной средой DMEM (полная питательная среда Дульбекко в модификации Игла) и оставляли на водяной бане при 37 °C на 24 ч для набухания. Культуральную среду применяли с целью улучшения выживаемости клеточной культуры, а содержащиеся в ней ионы кальция и магния выполняли роль сшивающего агента для формирования гелевой структуры. В дальнейшем проводили щадящую стерилизацию полученного гидрогеля автоклавированием при 112 °C в течение 30 мин при 0,5 атм.

Изготавливали гели с 4,0; 7,0 и 10,0 мас. % содержанием альгината натрия с целью получения необходимой пластичности и текучести полученной субстанции для удобства ее введения в брюшную полость, в том числе инъекционно, и одновременно для предотвращения преждевременного стекания геля с места аппликации.

Изготовление пленок и пористых матриц на основе пектинов. Пленки получали методом полива (solution casting method). В качестве антимикробного компонента использовали золи пек-

тин-Ag, предварительно синтезированные методом «зеленой химии» [7]. Пектины имели разную степень этерификации и амидирования: ВМ-пектин (высокометилованный пектин) – степень этерификации (СЭ) 71 %, средневязкостная молекулярная масса (M_v) ~141 000; НМ-пектин (низкометилованный пектин) – СЭ 35–42 %, M_v ~89 000; А-пектин (амидированный пектин) – СЭ 32 %, степень амидирования (СА) 18 %, M_v ~120 000. Для придания механической прочности пленкам использовали поливиниловый спирт (ПВС) с различной молекулярной массой (30 000 и 145 000). В смесь также вводили пластификатор глицерин. В зависимости от типа пектина и массового соотношения пектина, пластификатора и армирующей добавки изготавливали 6 видов пленок: 1) ВМ-пектин/ПВС-30000; 2) ВМ-пектин/ПВС-145000; 3) НМ-пектин/ПВС-30000; 4) НМ-пектин/ПВС-145000; 5) А-пектин/ПВС-30000; 6) А-пектин/ПВС-145000.

Пектиновые матрицы получали методом криоструктурирования (freeze-drying technique) растворов пектинов. Для этого 3,0 мас. % растворы пектинов замораживали при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (24 ч) и лиофильно высушивали (7 ч). Для улучшения стабильности в физиологических жидкостях осуществляли дополнительную сшивку ионами Ca^{2+} (CaCl_2) в водно-спиртовых растворах. Стерилизацию геля, пленок и пектиновых матриц проводили автоклавированием. Структуру полученных материалов изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии: ускоряющее напряжение 30 кВ, режим высокого вакуума, напыление – платина, разрешение 200 мкм (JEOL, JCM-6000Plus, Япония).

Изучение свойств полученных материалов. На первом этапе *in vitro* изучали физические свойства полученных материалов: консистенцию, вязкость, удобство применения, стойкость в физиологическом растворе и в питательной среде DMEM.

Затем в эксперименте на лабораторных крысах *in vivo* оценивали биосовместимость, биodeградируемость и противоспаечное действие полученных материалов. Для изучения биологических свойств применяли разработанную ранее экспериментальную модель перитонеальных спаек [8]. Под общей анестезией лабораторным крысам выполняли лапаротомию и формировали дефект париетальной брюшины боковой стенки живота диаметром 2 см. На область дефекта выполняли аппликацию альгинатного гидрогеля ($n = 20$) или пектиновых материалов ($n = 33$). Животных выводили из эксперимента на 7-е–33-и сутки. Оценивали эффективность материалов в предотвращении спаек, степень биodeградации, наличие осложнений: кровотечение, инфицирование, образование абсцессов и инфильтратов. Для оценки полученных данных была сформирована группа сравнения из 14 животных, которым после формирования дефекта гель и пленку не наносили.

На третьем этапе эксперимента *in vitro* изучали возможность использования полученных материалов в качестве матрикса для клеточной трансплантации. Для исследования их стойкости в культуральной среде, а также адгезии и жизнеспособности клеток использовали аллогенные мезенхимальные стволовые клетки (МСК), полученные из жировой ткани [9] путем ее забора из подкожной жировой клетчатки крыс под местной анестезией. Культивирование проводили до



Рис. 1. Сращения большого сальника с брюшной стенкой (стрелка)

Fig. 1. Adhesions between the omentum and abdominal wall (arrow)

3–4-го пассажа. Фенотипирование клеток и определение их принадлежности к МСК выполняли при лазерной проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к CD90 и CD105. Полученную клеточную культуру смешивали с альгинатным гидрогелем или наносили на поверхность исследуемых пектиновых пленок. В дальнейшем количество клеток подсчитывали в камере Горяева и оценивали их жизнеспособность путем окраски 0,4 %-ным раствором трипанового синего через 3, 5, 24 и 48 ч.

Результаты исследования. В группе сравнения без нанесения геля или пленки у 12 (85,7 %) из 14 животных образовались спайки сальника или тонкой кишки со сформированным дефектом брюшной стенки (рис. 1).

При изучении микропрепаратов зоны моделирования спаечного процесса у животных этой группы выявлено выражен-

ное продуктивное воспаление с образованием большого количества капилляров, фибробластов, лимфоцитов, макрофагов и одиночных гигантских многоядерных клеток. Поверхностный слой клеточного пролиферата был неоднородный, без признаков клеточной ориентации и формирования слоев (рис. 2).

Свойства альгинатного гидрогеля. При изучении свойств 4,0 мас. % альгинатного гидрогеля установлено, что он обладает высокой текучестью. При нанесении его на плоскую поверхность стеклянной чашки Петри толщина образовавшегося слоя геля составляла не более 0,5–1,0 мм. При последующем изучении в эксперименте на 6 крысах показано, что при такой концентрации геля противовоспалительного эффекта не наблюдается, так как у 4 (66,7 %) из 6 крыс произошло спайкообразование. Не исключено, что отсутствие противовоспалительного действия, возможно, связано с высокой текучестью 4,0 мас. % геля, приводящей к его преждевременному стеканию с места аппликации. В то же время изменение концентрации альгината до 10,0 мас. % приводит к увеличению плотности геля, что затрудняет его введение через шприц, поэтому в дальнейшем гель в указанной концентрации не применяли.

Вязкость 7,0 мас. % альгинатного гидрогеля была наиболее пригодной для его удобного введения, в том числе инъекционного. На плоской поверхности чашки Петри слой геля составлял около 2,0–3,0 мм при комнатной температуре. При изучении в эксперименте установлено, что нанесение 7,0 мас. % альгинатного гидрогеля на дефект париетальной брюшины предупреждало образование спаек в этой зоне. Только у 2 (10 %) из 20 крыс при выведении геля были отмечены сращения сальника и брюшины на 8-е сутки. У остальных животных визуально спаек не наблюдалось и происходило полное заживление дефекта (рис. 3). Уменьшение количества спаек при сопоставлении с группой сравнения (спайки у 12 из 14 животных) было достоверно ($p < 0,01$, Fisher). У всех выводимых из эксперимента животных послеоперационных осложнений со стороны брюшной полости и раны не отмечено, визуальных следов альгинатного геля не выявлено.

При гистологическом исследовании через 8 сут после начала эксперимента отмечено умеренное продуктивное воспаление в зоне дефекта брюшины: кровеносные сосуды типа капилляров, фибробласты, лимфоциты, макрофаги, одиночные гигантские многоядерные клетки (рис. 4). Между клетками определялись аморфные массы геля. Признаком хорошего заживления дефекта было образование поверхностного слоя с горизонтальной ориентацией клеток и мезотелиоподобной выстилкой.

При изучении влияния альгинатного гидрогеля на культуру МСК установлено, что последние сохраняли свою жизнеспособность достаточно долгое время. В течение 5, 24 и 48 ч культивирования в 7,0 %-ном геле жизнеспособность МСК составила 97,8; 95,5 и 79,0 % соответственно.

Пленки и пористые матрицы на основе пектинов. Полученные методом полива пленки пектин-Ag/ПВС имели гладкую поверхность и являлись механически прочными и стойкими

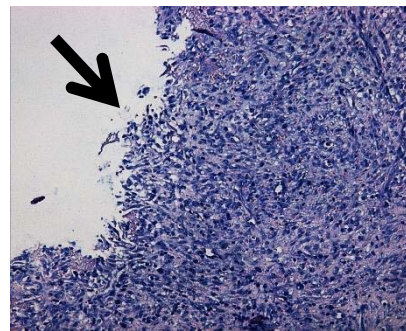


Рис. 2. Клеточный пролиферат в зоне моделирования спаек без признаков организации поверхностного слоя (стрелка). Окраска гематоксилин-эозином. Микрофото, $\times 200$

Fig. 2. Cells aggregate in the adhesions modeling area without cells organization (arrow). Hematoxylin-eosin, $\times 200$



Рис. 3. Заживший дефект париетальной брюшины

Fig. 3. Healed defect of parietal peritoneum

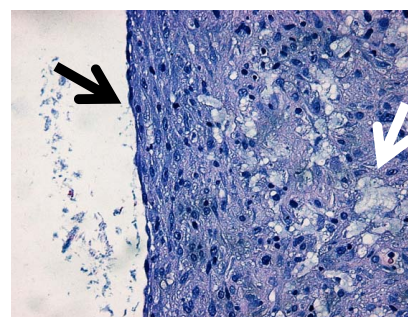


Рис. 4. Заживший дефект париетальной брюшины: аморфные массы геля (белая стрелка), поверхностная горизонтальная клеточная ориентация (черная стрелка). Окраска гематоксилин-эозином. Микрофото, $\times 200$

Fig. 4. Healed defect of parietal peritoneum: gel masses (white arrow), superficial horizontal cells orientation (black arrow). Hematoxylin-eosin. $\times 200$

во внешней среде. Однако при их погружении в физиологический раствор или питательную среду происходило немедленное изменение формы всех пленок в виде скручивания. При поднятии этих образцов пинцетом наблюдалась их деформация различной степени выраженности. Самостоятельно форма пленок не восстанавливалась, поэтому их расправляли с помощью двух пинцетов. Толщина пленок не влияла на частоту и степень скручивания, однако более толстые пленки было легче расправить.

При изучении биологических свойств пленок в эксперименте ($n = 21$) установлено, что в течение 8 сут их деградации не было ни в одном случае (рис. 5). При этом у 15 (71,4 %) животных определялся спаечный процесс между брюшной стенкой, пленкой и сальником. Кроме того, в 4 случаях отмечались осложнения в виде абсцессов и инфильтратов (рис. 5).

Оценка с помощью микроскопии адгезии и жизнеспособности МСК на пленках с добавленной армирующей добавкой показала, что клетки к поверхности данных пленок не прикрепились.

Неудовлетворительные результаты применения пектиновых пленок, полученных с добавлением поливинилового спирта, привели к необходимости изготовления материалов с менее прочной структурой, которая позволила бы быструю биodeградацию. Поэтому в дальнейшей работе армирующую добавку не применяли, изготовление проводили путем криоструктурирования и лиофильной сушки. Были изготовлены три типа пористых матриц на основе пектинов разной степени амидирования и этерификации. Полученные материалы имели пористую структуру, а размер их пор составлял от $70,0 \pm 21,0$ мкм для НМ-пектина и А-пектина до $123,0 \pm 21,0$ мкм для ВМ-пектина (рис. 6).

Полученные пористые матрицы частично деградировали уже в физиологическом растворе. При этом их форма сохранялась без скручивания или сворачивания, что делало удобным их практическое применение. При погружении в среду DMEM все образцы также сохранили свою форму, однако пленки на основе ВМ-пектина имели крайне низкую механическую прочность и повреждались при малейшем воздействии. Это, по-видимому, связано с недостаточным количеством способных к ионизации карбоксильных групп в макромолекуле высокометилированного

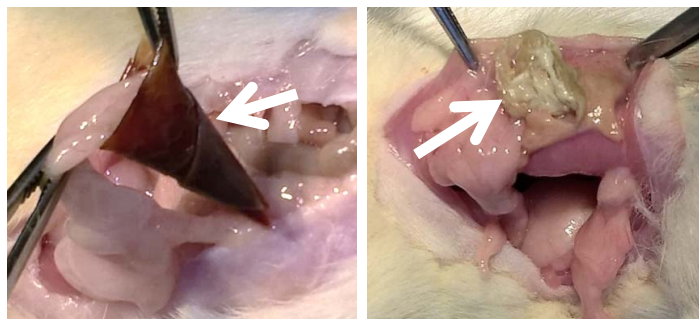


Рис. 5. Результаты исследования биологических свойств пектиновых пленок с армирующей добавкой: слева – скрученная пленка без признаков деградации (стрелка), справа – абсцесс брюшной стенки (стрелка)

Fig. 5. Results of use of pectin based films with armoring addition: on the left – twisted film without degradation (arrow), on the right – abscess in the peritoneal cavity (arrow)

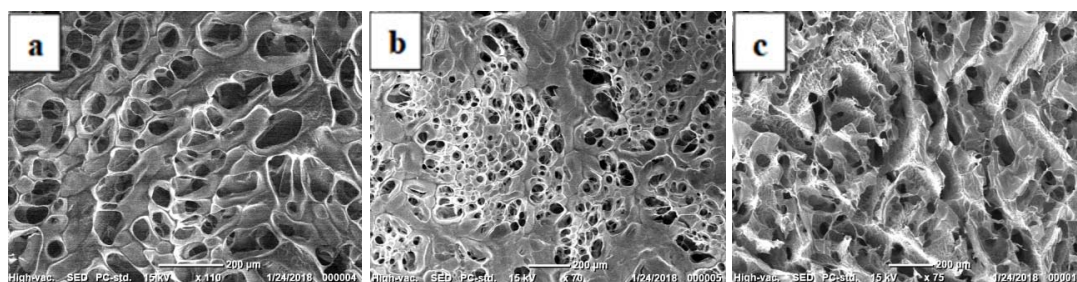


Рис. 6. Структура пектиновых матриц: а – ВМ-пектин, б – НМ-пектин, с – А-пектин.

Сканирующая электронная микроскопия, $\times 70$ – 110

Fig. 6. Structure of porous pectin membranes: a – HM pectin, b – LM pectin, c – A pectin. SEM images, $\times 70$ – 110

пектина (<30 %) и, следовательно, с его низкой способностью желировать в присутствии ионов кальция. В эксперименте у 6 (50,0 %) из 12 животных следов пористой матрицы в брюшной полости при выведении из опыта не выявлено. Остальные образцы визуализировались в виде наложений на брюшной стенке (рис. 7). При этом в 3 (25 %) случаях отмечались невыраженные спайки в области дефекта брюшной стенки.

При гистологическом исследовании дефекта брюшной стенки, на который проводилась аппликация пектиновых пористых матриц, наблюдалась их биодеградация в виде распада и фрагментации образцов, при этом выявлено минимальное продуктивное воспаление со стороны мышц брюшной стенки. Так, между ячейками пектинатной пористой матрицы определялись клеточные пролифераты, состоящие из лимфоцитов, макрофагов, фибробластов, и только единичные гигантские многоядерные клетки инородных тел (рис. 8). Патологические воспалительные гранулемы выявлены не были. Это свидетельствует о хорошей биосовместимости пектиновых матриц.

При оценке взаимодействия клеточной культуры с пористыми образцами установлено, что МСК прикреплялись к их поверхности, в том числе и внутри пор (рис. 9). Жизнеспособность снятых через 3 ч МСК составила 97,0–98,0 %, через 5 ч – 85,0–90,0 %. Через 24 ч произошел распад пленок в питательной среде, поэтому в дальнейшем жизнеспособность МСК на них не определяли. Таким образом, для относительно длительного культивирования клеток полученные пористые материалы на основе пектина мало пригодны вследствие их высокой способности к биодеградации. Целесообразным представляется использование их как механического объемного матрикса для трансплантации и доставки клеточной культуры на обширные плоскостные раневые поверхности.

Обсуждение. Одна из особенностей данного исследования – область непосредственной имплантации образца и клеточного материала. Брюшная полость, с одной стороны, обладает высокой абсорбирующей способностью, с другой – любое инородное тело вызывает реактивное воспаление брюшины, образование экссудата, фибрина и потенциальное спайкообразование, что идет вразрез с поставленной задачей. Поэтому особенно важным представляется разработка носителя с быстрой деградацией в брюшной полости. Резорбция матрикса в течение 7–10 сут позволит предотвратить развитие воспалительного процесса, связанного с введением инородного тела, и в то же время обеспечить разделение поврежденных поверхностей и аппликацию клеточного трансплантата на срок, необходимый для заживления дефекта. В текущей периодической литературе нами не обнаружены публикации по применению альгинатных и пектиновых матриц в качестве противоспаечных агентов.

В последнее время в связи с развитием и внедрением в клиническую практику принципов регенеративной медицины и клеточной терапии новым подходом в лечении и профилактике спаек брюшины может быть применение МСК. Положи-



Рис. 7. Пектиновая матрица в виде наложений на брюшной стенке (стрелка)

Fig. 7. Degraded pectin membrane (arrow)

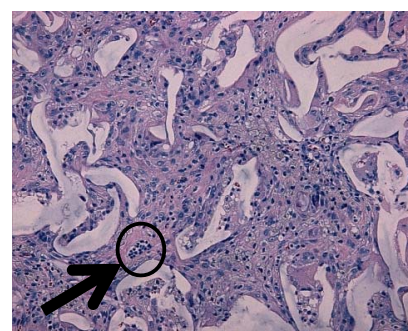


Рис. 8. Клеточные пролифераты между ячейками образца на основе криоструктурированного раствора пектина, единичная гигантская многоядерная клетка инородных тел (стрелка). Окраска гематоксилин-эозином. Микрофото, $\times 400$

Fig. 8. Cells aggregates between the pores of pectin membrane, a single big multinuclear cell of foreign bodies (arrow). Hematoxylin-eosin, $\times 400$

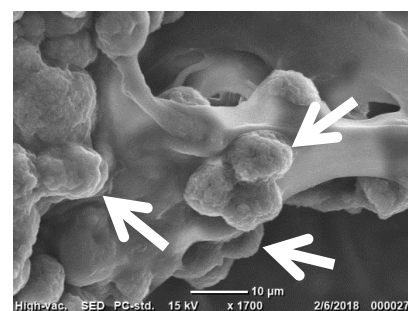


Рис. 9. Мезенхимальные стволовые клетки, прикрепленные к поверхности пектиновой пористой матрицы. Сканирующая электронная микроскопия, $\times 1700$

Fig. 9. Mesenchymal stem cells attached to the porous pectin membrane. SEM, $\times 1700$

тельными моментами при этом выглядят некоторые известные эффекты их применения [10, 11]: местное иммуносупрессивное действие при локальном применении, что минимизирует воспалительную реакцию, и активация фибринолитической системы, приводящая к растворению наложений фибрина – матрикса для образования спайки. В доступной мировой литературе имеются единичные исследования в рамках научного эксперимента [12, 13], однако отсутствуют результаты применения стволовых клеток в клинической практике. Поэтому одним из направлений нашего исследования было установление возможности применения разработанных материалов в качестве матрикса для клеточной трансплантации.

Альгинаты, или соли альгиновой кислоты, – это комплексные природные полисахариды, состоящие из нерегулярно чередующихся остатков β -D-маннуриновой и α -L-гулуриновой кислот, связанных гликозидными связями. Применение альгинатов основано на их способности к структурированию жидких растворов и стабилизации различных эмульсий [13, 15]. При местной аппликации альгинаты способствуют остановке кровотечений, устранению воспалительных явлений и ускорению процессов заживления. Положительными их свойствами являются биосовместимость и гидрофильность, что позволило широко применять альгинаты в клинической практике (например, в составе хирургических повязок, растворимой оболочки лекарственных препаратов, в зубных протезах). Альгинатные подложки применяются в качестве матрикса при клеточных трансплантациях [16]. Альгинаты соответствуют всем требованиям европейской и американской фармакопеи и разрешены многими организациями, такими как Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (*англ.* Food and Drug Administration, FDA, USFDA) США в качестве лекарственного средства и пищевой добавки [17].

В нашем исследовании применение альгинатного гидрогеля при нанесении на область дефекта париетальной брюшины в эксперименте показало его достоверное противоспаечное действие. Только у 10 % лабораторных животных при выведении из эксперимента были выявлены сращения брюшины и сальника. При этом наилучшие результаты были получены при использовании 7,0 мас. % концентрации геля. Применение альгинатного гидрогеля в качестве противоспаечного агента показало сопоставимые результаты с известными препаратами с доказанной эффективностью на основе карбоксиметилцеллюлозы и гиалуриновой кислоты [18].

Пектины – это комплексные природные полисахариды, присутствующие в клеточной стенке высших растений. Основным элементом пектинов является гомогалактуронат, состоящий из гомополимера α -D-галактуроновой кислоты. Пектины при растворении с бивалентными катионами формируют гели с формированием полисахаридных цепочек. В медицинской практике они применяются как в качестве системы доставки лекарств в разные отделы кишечника, так и в качестве дезинтоксикационных средств. Пектины обладают собственной физиологической активностью и проявляют целый спектр свойств – от противовоспалительных до иммуномодулирующих. При клеточной трансплантации отмечены сходные с альгинатами свойства [19]. Кроме того, тонкие пленки на основе пектина пригодны для эффективной адгезии МСК [20]. Композиционные полимер-неорганические материалы на основе пектинов, например нанокомпозиты пектин-Ag, проявляют собственную антибактериальную активность и обеспечивают синергетический антибактериальный эффект в сочетании с аминогликозидными антибиотиками [20].

С применением методов полива и криоструктурирования на основе пектинов с различной степенью этерификации и амидирования нами получены различные по свойствам материалы. Так, при использовании пленок на основе антимикробных нанокомпозитов пектин-Ag и поливинилового спирта в качестве армирующей добавки сформированы механически прочные эластичные пленки. Однако при смачивании физиологическим раствором они быстро деформировались и скручивались, что значительно затрудняло их интраперитонеальное введение. Кроме того, МСК не прикреплялись к поверхности таких пленок. В то же время криоструктурированные пектиновые матрицы имели губчатую структуру и отличались размером микропор. Такое строение позволяет использовать их в качестве объемных 3D носителей для различных клеточных культур.

Полученные образцы на основе 7,0 мас. % альгинатного гидрогеля и пористых пектиновых матриц показали достаточно быструю деградацию и низкий воспалительный эффект при гистологическом исследовании. У большинства образцов отмечались резорбция геля и разрушение

материала уже в течение 8 сут после трансплантации. Разработанные матриксы показали высокую жизнеспособность культуры МСК в сроки, достаточные для подготовки и выполнения клеточной трансплантации. Однако вследствие их высокой способности к биодegradации необходимы предварительное наращивание в питательной среде и подготовка культуры клеток по общепризнанным методикам. Указанные свойства позволяют продолжить научные исследования по изучению влияния трансплантации культуры МСК на течение спаечного процесса в брюшной полости.

Заключение. Высокая степень биодegradации, хорошая биосовместимость, противоспаечная способность материалов, разработанных на основе 7 %-ного альгинатного геля и пористых пектиновых матриксов, изготовленных из амидированного, высоко- и низкометилованного пектинов, свидетельствует о возможности их применения в качестве носителей для клеточных трансплантаций при разработке новых методов лечения перитонеальных спаек.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management / T. Liakakos [et al.] // *Dig. Surg.* – 2001. – Vol. 18, N 4. – P. 260–273. <https://doi.org/10.1159/000050149>
2. Barbul, A. In brief [Abdominal adhesions] / A. Barbul // *Curr. Probl. Surg.* – 2015. – Vol. 52, N 7. – P. 266–269. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2015.05.003>
3. Intra-abdominal adhesions: definition, origin, significance in surgical practice, and treatment options / D. Brüggmann [et al.] // *Dtsch. Arztebl. Int.* – 2010. – Vol. 107, N 44. – P. 769–775. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2010.0769>
4. Спаечная болезнь брюшной полости / А. А. Андреев [и др.] // *Вестн. эксперим. и клин. хирургии.* – 2017. – Т. 10, № 4. – С. 320–326.
5. Кондратович, Л. М. Основы понимания формирования спаечного процесса в брюшной полости. интраоперационная профилактика противоспаечными барьерными препаратами (обзор литературы) / Л. М. Кондратович // *Вестн. новых мед. технологий.* – 2014. – Т. 21, № 3. – С. 169–173.
6. Benefits and harms of adhesion barriers for abdominal surgery: a systematic review and meta-analysis / R. P. Broek [et al.] // *Lancet.* – 2014. – Vol. 383, N 9911. – P. 48–59. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)61687-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)61687-6)
7. Preparation of stable sols of silver nanoparticles in aqueous pectin solutions and properties of the sols / M. K. A. Al-Muhanna [et al.] // *Colloid. J.* – 2015. – Vol. 77, N 6. – P. 677–684. <https://doi.org/10.1134/s1061933x15060022>
8. Экспериментальная модель перитонеальных спаек / А. В. Жура [и др.] // *Новости хирургии.* – 2017. – № 4. – С. 333–339.
9. Клинические возможности применения аутогенных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани при лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей / Е. В. Баранов [и др.] // *Гены и клетки.* – 2008. – Т. 8, № 2. – С. 79–84.
10. Kassem, M. Mesenchymal stem cells: cell biology and potential use in therapy / M. Kassem, M. Kristiansen, B. M. Abdallah // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2004. – Vol. 95, N 5. – P. 209–214. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2004.pt0950502.x>
11. Herrick, S. E. Mesothelial progenitor cells and their potential in tissue engineering / S. E. Herrick, S. E. Mutsaers // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 36, N 4. – P. 621–642. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.11.002>
12. Lucas, P. A. Stem cells for mesothelial repair: an understudied modality / P. A. Lucas // *Int. J. Artif. Organs.* – 2007. – Vol. 30, N 6. – P. 550–556. <https://doi.org/10.1177/039139880703000613>
13. Effect of rat mesenchymal stem cells on development of abdominal adhesions after surgery / P. A. Lucas [et al.] // *J. Surg. Res.* – 1996. – Vol. 62, N 2. – P. 229–232. <https://doi.org/10.1006/jsre.1996.0200>
14. Клеточные технологии для регенеративной медицины : сб. материалов 2-й Всерос. shk.-конф. для молодых ученых, 17–21 окт. 2011 г. на базе Ин-та цитологии РАН / под ред. Г. П. Пинаева [и др.]. – СПб. : Изд-во Политехн. ун-та, 2011. – 332 с.
15. 3D porous calcium-alginate scaffolds cell culture system improved human osteoblast cell clusters for cell therapy / C.-Y. Chen [et al.] // *Theranostics.* – 2015. – Vol. 5, N 6. – P. 643–655. <https://doi.org/10.7150/thno.11372>
16. Alginate-chitosan/hydroxyapatite polyelectrolyte complex porous scaffolds: preparation and characterization / J. Han [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2010. – Vol. 46, N 2. – P. 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.11.004>
17. Shapiro, L. Novel alginate sponges for cell culture and transplantation / L. Shapiro, S. Cohen // *Biomaterials.* – 1997. – Vol. 18, N 8. – P. 583–590. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(96\)00181-0](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(96)00181-0)
18. Efficacy and safety of seprafilm for preventing postoperative abdominal adhesion: systematic review and meta-analysis / Q. Zeng [et al.] // *World J. Surg.* – 2007. – Vol. 31, N 11. – P. 2125–2131. <https://doi.org/10.1007/s00268-007-9242-9>
19. Biofunctionalized pectin hydrogels as 3D cellular microenvironments / S. Neves [et al.] // *J. Mat. Chem. B.* – 2015. – Vol. 3, N 10. – P. 2096–2108. <https://doi.org/10.1039/c4tb00885e>
20. Layer by layer buildup of polysaccharide-containing films: physi-co-chemical properties and mesenchymal stem cells adhesion / V. Kulikouskaya [et al.] // *J. Biomed. Mat. Res. Pt. A.* – 2018. – Vol. 106, N 8. – P. 2093–2104. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36408>
21. Получение гидрогеля на основе нанокомпозита пектин-Ag, обладающего собственной антимикробной активностью / К. С. Гилевская [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси.* – 2018. – Т. 62, № 4. – С. 432–438.

References

1. Liakakos T., Thomakos N., Fine P. M., Dervenis C., Young R. L. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Digestive Surgery*, 2001, vol. 18, no. 4, pp. 260–273. <https://doi.org/10.1159/000050149>
2. Barbul A. In brief [Abdominal adhesions]. *Current Problems in Surgery*, 2015, vol. 52, no. 7, pp. 266–269. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2015.05.003>
3. Brüggmann D., Tchatchian G., Wallwiener M., Münstedt K., Tinneberg H. R., Hackethal A. Intra-abdominal adhesions: definition, origin, significance in surgical practice, and treatment options. *Deutsches Ärzteblatt International*, 2010, vol. 107, no. 44, pp. 769–775. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2010.0769>
4. Andreev A. A., Ostroushko A. P., Sotnikova E. S., Kir'yanova D. V., Britikov V. N. Peritoneal adhesion disease. *Vestnik eksperimental'noi i klinicheskoi khirurgii = Journal of Experimental and Clinical Surgery*, 2017, vol. 10, no. 4, pp. 320–326 (in Russian).
5. Kondratovich L. M. Understanding of the peritoneal adhesions formation. Intraoperative prophylaxis with antiadhesion barriers (review of literature). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii = Journal of New Medical Technologies*, 2014, vol. 21, no. 3, pp. 169–173 (in Russian).
6. Broek R. P., Stommel M. W. J., Strik C., van Laarhoven C. J. H. M., Keus F., van Goor H. Benefits and harms of adhesion barriers for abdominal surgery: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 2014, vol. 383, no. 9911, pp. 48–59. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)61687-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)61687-6)
7. Al-Muhanna M. K. A., Hileuskaya K. S., Kulikouskaya V. I., Kraskouski A. N., Agabekov V. E. Preparation of stable sols of silver nanoparticles in aqueous pectin solutions and properties of the sols. *Colloidal Journal*, 2015, vol. 77, no. 6, pp. 677–684. <https://doi.org/10.1134/s1061933x15060022>
8. Zhura A. V., Tret'yak S. I., Khryshchanovich V. Ya., Makarevich Zh. A. Experimental model of peritoneal adhesions. *Novosti khirurgii [News of surgery]*, 2017, no. 4, pp. 333–339 (in Russian).
9. Baranov E. V., Tret'yak S. I., Vasilevich I. B., Lobanok E. S., Volotovskii I. D. Clinical possibilities of autogenic multipotent mesenchymal stromal cells from adipose tissue in treatment of patients with ulcers of low extremities. *Geny i kletki [Genes and cells]*, 2008, vol. 8, no. 2, pp. 79–84 (in Russian).
10. Kassem M., Kristiansen M., Abdallah B. M. Mesenchymal stem cells: cell biology and potential use in therapy. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 2004, vol. 95, no. 5, pp. 209–214. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2004.pto950502.x>
11. Herrick S. E., Mutsaers S. E. Mesothelial progenitor cells and their potential in tissue engineering. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2004, vol. 36, no. 4, pp. 621–642. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.11.002>
12. Lucas P. A. Stem cells for mesothelial repair: an understudied modality. *International Journal of Artificial Organs*, 2007, vol. 30, no. 6, pp. 550–556. <https://doi.org/10.1177/039139880703000613>
13. Lucas P. A., Warejcka D. J., Zhang L.-M., Newman W. H., Young H. E. Effect of rat mesenchymal stem cells on development of abdominal adhesions after surgery. *Journal of Surgical Research*, 1996, vol. 62, no. 2, pp. 229–232. <https://doi.org/10.1006/jsre.1996.0200>
14. *Cell technologies for regenerative medicine: a collection of materials of the 2nd All-Russian School-Conference for Young Scientists, October 17–21, 2011 on the basis of the Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences*. Sankt-Peterburg, Publishing house of the Polytechnic University, 2011. 332 p. (in Russian).
15. Chen C.-Y., Ke C.-J., Yen K.-C., Hsieh H.-C., Sun J.-Sh., Lin F.-H. 3D porous calcium-alginate scaffolds cell culture system improved human osteoblast cell clusters for cell therapy. *Theranostics*, 2015, vol. 5, no. 6, pp. 643–655. <https://doi.org/10.7150/thno.11372>
16. Han J., Zhou Z., Yin R., Yang D., Nie J. Alginate-chitosan/hydroxyapatite polyelectrolyte complex porous scaffolds: preparation and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2010, vol. 46, no. 2, pp. 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.11.004>
17. Shapiro L., Cohen S. Novel alginate sponges for cell culture and transplantation. *Biomaterials*, 1997, vol. 18, no. 8, pp. 583–590. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(96\)00181-0](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(96)00181-0)
18. Zeng Q., Yu. Z., You J., Zhang Q. Efficacy and safety of seprafilm for preventing postoperative abdominal adhesion: systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgery*, 2007, vol. 31, no. 11, pp. 2125–2131. <https://doi.org/10.1007/s00268-007-9242-9>
19. Neves S. C., Gomes D. B., Sousa A., Bidarra S. J., Petrini P., Moroni L., Barrias C. C., Granja P. L. Biofunctionalized pectin hydrogels as 3D cellular microenvironments. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, vol. 3, no. 10, pp. 2096–2108. <https://doi.org/10.1039/c4tb00885e>
20. Kulikouskaya V. I., Pinchuk S. V., Hileuskaya K. S., Kraskouski A. N., Vasilevich I. B., Matievski K. A., Agabekov V. E., Volotovskii I. D. Layer by layer buildup of polysaccharide-containing films: physico-chemical properties and mesenchymal stem cells adhesion. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 2018, vol. 106, no. 8, pp. 2093–2104. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36408>
21. Gilevskaya K. S., Kraskovskii A. N., Ladut'ko E. I., Novik G. I., Agabekov V. E. Preparation and properties of kanamycin-containing hydrogels based on pectin-Ag. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 4, pp. 432–438 (in Russian).

Информация об авторах

Жура Александр Владимирович – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: av_zhura@mail.ru

Куликовская Виктория Игоревна – канд. хим. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kulikouskaya@gmail.com

Гилевская Ксения Сергеевна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Республика Беларусь).

Красковский Александр Николаевич – мл. науч. сотр. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Республика Беларусь).

Третьяк Станислав Иванович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: surg2@bsmu.by

Агабеков Владимир Енокович – академик, д-р хим. наук, профессор, директор. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Alexandr V. Zhura – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: av_zhura@mail.ru

Viktoryia I. Kulikouskaya – Ph. D. (Chem.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kulikouskaya@gmail.com

Kseniya S. Hileuskaya – Ph. D. (Chem.), Senior researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus).

Aliaksandr N. Kraskouski – Junior researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus).

Stanislaw I. Tretyak – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: surg2@bsmu.by

Vladimir E. Agabekov – Academician, D. Sc. (Chem.), Professor, Director. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus).