

УДК 543.424.2

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОВЕРХНОСТИ АОРТАЛЬНЫХ КЛАПАНОВ СЕРДЦА БАРАНОВ ДО И В ПРОЦЕССЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ИХ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ

Шалковская П. Ю.¹, Трапезников Д. С.¹, Тимченко Е. В.¹, Тимченко П. Е.¹,
Волова Л. Т.², Долгушкин Д. А.²

¹Самарский национальный исследовательский университет
имени академика С. П. Королёва, г. Самара

²Институт экспериментальной медицины и биотехнологий Самарского
государственного медицинского университета, г. Самара

Работа посвящена анализу качественного состава поверхности клапанов сердца до и после выполнении их децеллюляризации. Поскольку большое количество осложнений при использовании биоимплантатов клапанов диктует необходимость качественной обработки биоматериалов, необходимо разрабатывать новые методы обработки клеточных матрисов. Децеллюляризация является одним из вспомогательных методов тканевой инженерии клапанов сердца. Данный процесс направлен на удаление клеток из ткани с сохранением внеклеточного матрикса и трехмерности структуры материала. Ряд авторов считает, что для снижения антигенности ткани во время процесса децеллюляризации необходимо максимально полное устранение клеточных компонентов, а именно: мембран и связанных с ней мембранных белков, клеточных органелл, ядер и содержащихся в них нуклеиновых кислот.

На сегодняшний день не существует универсальной методики децеллюляризации клапанов сердца. Также отсутствуют общепризнанные способы контроля её эффективности. С этой целью на данный момент используют гистологические, гистохимические, биохимические и иммунологические методы. Основным их недостатком, наряду с трудоемкостью и дороговизной, является деструкция анализируемых образцов. В связи с этим поиск оптимальных способов анализа качественного состава клапанов сердца в процессе децеллюляризации является актуальной задачей.

Цель работы: с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) провести анализ качественного состава поверхности клапанов сердца до и после выполнении их децеллюляризации.

Спектральные характеристики образцов изучали с помощью экспериментального стенда, включающего в себя высокоразрешающий цифровой спектрометр Shamrock sr-303i с встроенной охлаждаемой камерой DV420A-OE, волоконно-оптический зонд для спектроскопии комбинационного рассеяния RPB785, совмещённый с лазерным модулем LuxxMaster LML-785.0RB-04 (с регулируемой мощностью до 500 мВт, длиной волны 785 нм). Мощность излучения 500 мВт данного лазера в пределах используемых времён экспозиции до 300 секунд не вызывает деструктивных изменений образцов. Зонд комбинационного рассеяния фокусировал лазерное излучение на объекте на расстоянии 7,5 мм от выходного окна с диаметром фокусного пятна менее 0,2 мм и собирал излучение [1].

В качестве материала исследования использованы аортальные клапаны половозрелых баранов. Децеллюляризацию клапанов проводили согласно протоколам [2,3] в модификации на базе Института экспериментальной медицины и биотехнологий СамГМУ. Выделяли этап 1 децеллюляризации до ферментативной обработки и этап 2

после неё. Образцы биоматериалов хранили до исследования в фосфатно-солевом растворе с добавлением антибиотиков при температуре 4°C.

При исследовании поверхностей аортальных клапанов до и в процессе их децеллюляризации с помощью спектроскопии КР было установлено, что уже после первого этапа децеллюляризации происходило уменьшение интенсивностей на волновых числах 812 см⁻¹, 1062 см⁻¹ и 1440, см⁻¹, соответствующих фосфодиэфирной связи РНК; OSO⁻³ симметричному растяжению гликозаминогликанов и хондроитин-6-сульфату; протеинам, липидам. После завершения второго этапа децеллюляризации отмечали незначительное уменьшение интенсивностей на волновом числе 1340 см⁻¹, соответствующему деформации белков и нуклеиновых кислот (ДНК).

При введении оптических коэффициентов и их двухмерном анализе была установлена эффективность процесса децеллюляризации аортальных клапанов, которая косвенно проявлялась снижением содержания в поверхности образцов липидов, протеинов, гликозаминогликанов. Однако содержание ДНК даже к завершению второго этапа децеллюляризации в образцах клапанов снижалось незначительно.

С помощью введенных оптических коэффициентов можно контролировать эффективность процесса децеллюляризации клапанов сердца.

Библиографический список:

1. Zaharov V.P., Timchenko E.V., Timchenko P.E., Zolotuhina A.D., Alembekov S.V. Alteration of hydrosphere optical properties by synthetic active compounds, *Computer Optics*, 2011, 35 (2), pp. 238-242
2. Lichtenberg A., Tudorache I., Cebotari S. et al. A Preclinical testing of tissue-engineered heart valves re-endothelialized under simulated physiological conditions. *Circulation* 2006; 114(1 Suppl): I559-65.
3. Lichtenberg A. et al. Biological scaffolds for heart valve tissue engineering. *Methods Mol. Med.*, 2007, vol. 140, no. 2, pp. 309-317.