

4. Sun Y.H. Effects of left ventricular contractility and coronary vascular resistance on coronary dynamics / Y.H. Sun, T. J. Anderson, K. H. Parker, J. V. Tyberg // *AJP-Heart and Circulatory Physiology*. – 2004. – V. 286. - H1590–H1595.

**Динисламова О.А.¹, Камалов И.А.², Сафронов А.П.², Бляхман Ф.А.^{1,2}
ТЕСТИРОВАНИЕ СТЕПЕНИ НАБУХАНИЯ ГИДРОГЕЛЯ
ПОЛИМЕТАКРИЛАТА НАТРИЯ В РАСТВОРЕ ХЭНКСА: ФОКУС НА
РАЗРАБОТКУ УПРАВЛЯЕМЫХ ПЛАТФОРМ ДЛЯ КЛЕТОЧНЫХ
ТЕХНОЛОГИЙ**

¹Кафедра медицинской физики, информатики и математики
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

²Институт естественных наук и математики
Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.
Ельцина

**Dinislamova O.A.¹, Kamalov I.A.², Safronov A.P.², Blyakhman F.A.^{1,2}
TESTING OF SWELLING DEGREE FOR SODIUM POLYMETACRYLATE
HYDROGEL IN *HANKS' SOLUTION*: FOCUS ON THE DEVELOPMENT OF
CONTROLLED SCAFFOLDS FOR CELL TECHNOLOGIES**

¹Department of medical physics, informatics and mathematics
Ural state medical university

Yekaterinburg, Russian Federation
²Institute of natural science and mathematics
Ural federal university named after the first President of Russia B.N. Yeltsyn,
Yekaterinburg, Russian Federation
E-mail:ODinislamova@gmail.com

Аннотация. В статье рассмотрены полиэлектролитные гели на основе полиметакриловой кислоты в качестве перспективных материалов подложек для культивирования клеток. Исследована равновесная степень набухания и кинетика набухания гелей в солевом растворе Хэнкса в зависимости от степени сшивки и ионизации гелей.

Annotation. This study deals with polyelectrolyte gels based on polymethacrylic acid as a promising material for the culturing scaffolds. The equilibrium degree and the kinetics of gel swelling in Hanks' salt solution depending on the extent of cross-linking density and ionization of gels were investigated.

Ключевые слова: полиэлектролитный гель, культуральная подложка, раствор Хэнкса, степень набухания.

Key words: polyelectrolyte gel, scaffold, cells culturing, *Hanks' solution*, swelling degree.

Введение

Известно, что для эффективного управления дифференциацией стволовых клеток необходимо создание условий, максимально приближенных к естественной жизнедеятельности культивируемых клеток. В частности, установлено, что механические характеристики культуральных подложек (scaffolds) являются важнейшим фактором оптимизации процесса дифференциации стволовых клеток в клетки мускулатуры [4]. Для обеспечения таких условий могут быть использованы полиэлектролитные синтетические гидрогели, то есть сетчатые полимеры, набухшие в растворителе [1]. Потенциальная возможность использования гидрогелей в качестве электромеханических систем была изучена в ряде исследований [2,3].

Универсальным параметром для описания механических свойств гидрогелей может служить их степень набухания, то есть возможность гелей поглощать или высвобождать растворитель. Степень набухания существенным образом зависит от ряда внутренних (например, плотность сшивки, степень ионизации геля) и внешних (рН раствора, деформация) факторов. Варьирование этих факторов позволяет регулировать механические свойства гидрогелей в широком диапазоне [1,2].

В наших ранних исследованиях было установлено, что гидрогели на основе метакриловой кислоты проявляют вязкоупругие свойства в воде, схожие с биологическими объектами [2,3]. В настоящей работе приводятся результаты, характеризующие способность данных гелей к изменению объема в солевом растворе Хэнкса, который широко используется в экспериментах с культивированием клеток.

Цель исследования - изучить равновесную степень набухания гидрогелей на основе полиметакриловой кислоты и ее солей в растворе Хэнкса, а также исследовать кинетику набухания.

Материалы и методы исследования

Гели полиметакриловой кислоты (ПМАК) и полиметакрилата натрия (NaПМАК) синтезировали методом радикальной полимеризации в 2.7 М водном растворе. Метакрилат натрия получали до синтеза нейтрализацией мономерной метакриловой кислоты раствором гидроксида натрия. Концентрация раствора гидроксида натрия определяла степень нейтрализации гидрогеля. Сшивающим агентом служил метилendiакриламид. Степень сшивки гидрогелей регулировали концентрацией сшивающего агента. Инициатором полимеризации служил пероксодисульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (концентрация 0.017 моль/л). Полимеризацию проводили в цилиндрических полиэтиленовых формах объемом 5 мл при температуре 60°C в течение 2 часов. После полимеризации гели промывали дистиллированной водой в течение двух недель и в дальнейшем хранили в контейнерах с водой. Степень сшивания гелей NaПМАК составляла 25, 50, 100, 200, 300 звеньев линейной цепи на одну сшивку, степень нейтрализации 0% (не ионизированный), 10%, 20%, 30%.

В работе использовался раствор Хэнкса, являющийся основой для большинства питательных сред. Равновесная степень набухания в растворе Хэнкса ($pH=7.36\pm 0,01$) определялась следующим образом: образцы гелей одинакового объема (примерно 0.1 мл) выдерживали в 10 мл раствора в течение 7 дней в термостате при температуре $37\pm 0.15^\circ C$. Затем определялась масса геля в набухом состоянии (m_n), после чего образцы выдерживались в сушильном шкафу около 6 часов при $22^\circ C$ и определялась масса сухого остатка (m_c). Степень набухания геля (α) рассчитывалась как: $\alpha = (m_n - m_c) / m_c$.

Для исследования кинетики набухания гидрогелей в растворе Хэнкса, брали кубические образцы гидрогелей одинакового размера (примерно $11\times 11\times 11$ мм и объемом, не превышающим 1500 мм^3). Образцы из контейнеров с водой, в которых они хранились, помещали в кюветы, заполненные 10 мл раствора Хэнкса. При помощи видеокамеры, имеющей связь с компьютером, и периодически регистрировали объем образцов. Анализ видеоизображений проводили в программе AltamiStudio. После чего рассчитывали относительное изменение объема образцом V/V_0 .

Каждый раз измерение α и V проводилось не менее 10 раз, после чего определялись среднее и ошибка измерений при уровне значимости $p < 0,05$. Построение и анализ кинетических кривых осуществлялся в программе Microsoft Excel 2007.

Результаты исследования и их обсуждение

На рисунке 1 представлены результаты измерения равновесной степени набухания образцов гидрогелей в растворе Хэнкса в зависимости от степени сшивки и ионизации. На столбиках гистограммы вертикальными линиями отмечены границы доверительных интервалов при уровне значимости $p < 0,05$. Наибольшие значения степени набухания демонстрируют редкосшитые гидрогели, способные к увеличению веса в растворе Хэнкса в ~ 40 раз. Увеличение степени ионизации от 0% до 30% также ведет к значительному возрастанию α . Таким образом, наибольшую степень набухания имели образцы NaПМАК300/10, NaПМАК300/20, NaПМАК300/30. Другими словами, перечисленные образцы имеют наибольшую способность к механическим преобразованиям в растворе Хэнкса.

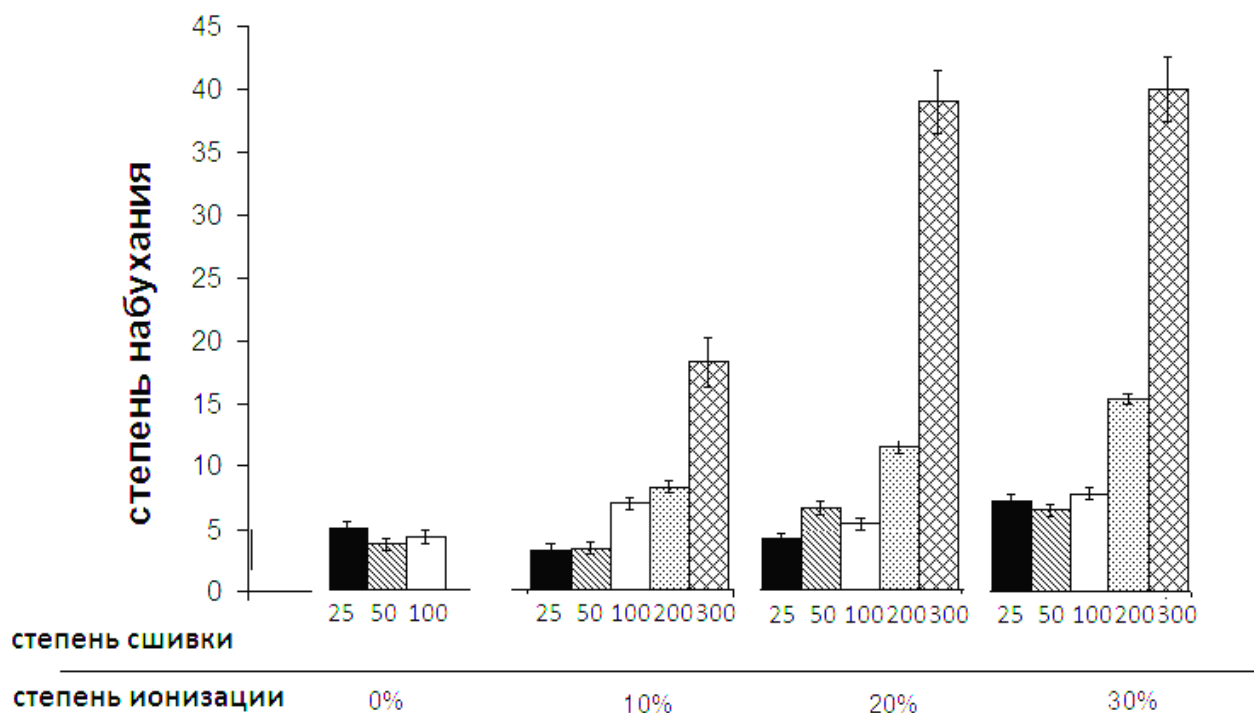


Рис.1. Степень набухания гидрогелей NaПМАК в растворе Хэнкса.

Для гидрогелей с наибольшими значениями α были исследованы кинетические кривые изменения объема, отражающие время достижения равновесного состояния геля при помещении его в раствор Хэнкса (рис. 2). За 100% принято значение объема образцов, находившихся изначально в равновесном состоянии с водой. На рис. 2 видно, что уже в первые 10 мин объем образцов резко уменьшается, то есть гели сжимаются (коллапсируют). Новое равновесное состояние с раствором Хэнкса достигалось по прошествии одного часа для гелей NaПМАК200/10, NaПМАК200/30, NaПМАК300/30.

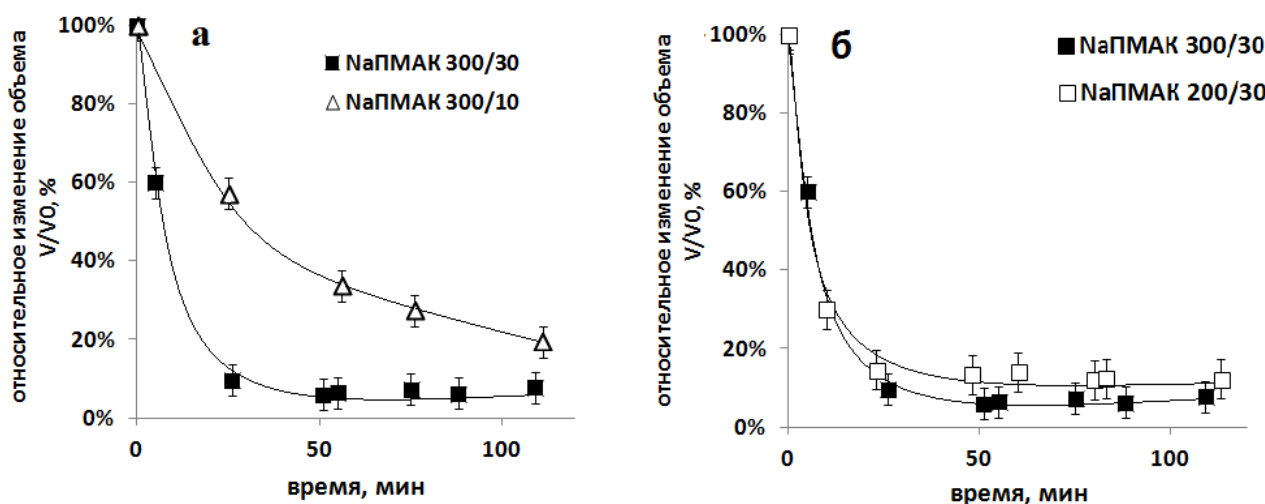


Рис. 2. Кинетика сжатия гидрогелей NaПМАК при помещении в раствор Хэнкса.

Динамика изменения объема гелей NaПМАК зависела от плотности сшивки геля, однако, в большей мере, от степени его ионизации. Так при одинаковой плотности сшивки в любой момент времени объем геля тем больше, чем меньше степень ионизации образцов (рис 2а).

Таким образом, степень набухания гелей NaПМАК, помещенных в солевой раствор Хэнкса, а в дальнейшем и в питательную среду на его основе, зависит от внутренних параметров гидрогелей (степени сшивки и ионизации). Следовательно, задавая параметры синтеза можно регулировать механические свойства гидрогелей в широких пределах в соответствии с задачами культивирования клеток.

Выводы

1. Равновесная степень набухания гелей NaПМАК в растворе Хэнкса принимает наибольшие значения при уменьшении степени сшивки и увеличении степени ионизации геля.

2. При помещении в раствор Хэнкса гидрогели полиметакриловой кислоты коллапсируют (уменьшение объема достигает 80% в течение первых 30 мин).

3. Динамика изменения объема гелей NaПМАК зависит от плотности сшивки геля, однако, в большей мере, от степени его ионизации.

4. Механические характеристики гидрогелей NaПМАК в солевом растворе Хэнкса могут задаваться синтезом полимера в соответствии с конкретными задачами инженерии тканей.

Список литературы

1. Филиппова О.Е. «Восприимчивые» полимерные гели/О.Е. Филиппова–Высокомолекулярные соединения: Серия С. – 2000. – Т.42. – №12. – С. 2328-2352.

2. Шкляр Т.Ф. Механоэлектрические явления в синтетических гидрогелях: возможная связь с цитоскелетом/ Т.Ф. Шкляр, А.П. Сафронов, Дж. Поллак, Ф.А.Бляхман//Биофизика. – 2010. – Т.55. – №6. – С.1014–1021.

3. Blyakhman F.A. Mechanoelectrical transduction in the hydrogel-based biomimetic sensors/ F.A. Blyakhman, A.P. Safronov, T.F. Shklyar, M.T. Lopez-Lopez // Sensors and actuators A: Physical. – 2016. –Т.248. - №5. –Р. 54-61.

4. Greiner A.M. Micro-Engineered 3D Scaffolds for Cell Culture Studies./ A.M. Greiner, B. Richter, M. Bastmeyer.//Macromolecular bioscience. – 2012. – Т.12. – №10. – Р. 1301-1314.

УДК 57.084.1

Красильников В.Н., Тимохина В.Э., Мехдиева К.Р., Захарова А.В. ОСОБЕННОСТИ СПЕЦИАЛЬНОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ У ФУТБОЛИСТОВ С СИНДРОМОМ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Институт физической культуры, спорта и молодежной политики