

УДК 616.831.95-089.844-092.9  
doi: 10.22494/cot.v8i1.105

# Композитна хітозан/ поліетиленоксидна плівка для пластики твердої мозкової оболони на моделі черепно-мозкової травми у щурів



Пантелейчук А. Б.<sup>1</sup>, Каджая М. В.<sup>1</sup>, Білошицький В. В.<sup>2</sup>, Шмельова А. А.<sup>3</sup>, Петрів Т. І.<sup>4</sup>,  
Гнатюк О. П.<sup>5</sup>, Довбешко Г. І.<sup>5</sup>, Козакевич Р. Б.<sup>6</sup>, Тьортих В. А.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Відділ нейротравми. Державна установа «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

<sup>2</sup>Група лікування хронічного болю. Державна установа «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

<sup>3</sup>Відділ нейропатоморфології. Державна установа «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

<sup>4</sup>Відділення відновлювальної нейрохірургії з рентгеноопераційною. Державна установа «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

<sup>5</sup>Відділ фізики біологічних систем. Інститут фізики Національної академії наук України, Київ, Україна

<sup>6</sup>Відділ хемосорбції і гібридних матеріалів. Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка, Київ, Україна

e-mail: [basirovich@ukr.net](mailto:basirovich@ukr.net)

## РЕЗЮМЕ

Пластика твердої мозкової оболони (ТМО) є стандартною процедурою під час нейрохірургічних операцій з приводу травм та захворювань головного мозку. Герметичне закриття ТМО не завжди можливе з використанням аутологічних тканин, а синтетичні, аlogenні та ксеногенні матеріали, якими користуються зараз, мають недоліки, тому пошук матеріалу, який найкраще відповідав би вимогам для замітника ТМО, триває.

**МЕТА.** Дослідити в лабораторних умовах фізичні і фізико-хімічні властивості композитної хітозан/поліетиленоксидної плівки; дослідити можливість застосування біополімерних плівок на основі хітозану для пластики ТМО в умовах експерименту; проаналізувати її здатність до біодеградації; оцінити вплив даної біополімерної плівки на регенерацію ТМО.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.** В експерименті було використано 10 білих щурів віком 12 міс. з пенетраційною моделлю черепно-мозкової травми. Післяопераційний матеріал досліджували методами макроскопії, оптичної мікроскопії та інфрачервоної спектроскопії.

**РЕЗУЛЬТАТИ.** За даними аналізу інфрачервоних спектрів поглинання визначено спектральні маркери рубцевої тканини, регенеруючої ТМО та інтактної ТМО. Показано, що рубцева тканина за спектроскопічними ознаками суттєво відрізняється від тканин регенеруючої ТМО. Дані коливальної спектроскопії свідчать про деградацію хітозанової плівки та відновлення тканин нормальної ТМО. Дані гістологічного дослідження також свідчать про біологічну деградацію хітозанової плівки і заміщення її новоствореною нормальною сполучною тканиною.

**ВИСНОВКИ.** Дані морфологічних і спектроскопічних досліджень показують здатність хітозан/поліетиленоксидної плівки до біодеградації *in vivo* з поступовим заміщенням її не рубцевою, а нормальною сполучною тканиною.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хітозан; поліетиленоксид; пенетруюча модель черепно-мозкової травми; інфрачервона спектроскопія; морфологічні дослідження

У нейрохірургічній практиці проблема пластики твердої мозкової оболони (ТМО) є надзвичайно актуальною, оскільки однією з умов успішності при нейрохірургічному втручанні є відновлення її цілісності та герметичності субдурального простору, щоб запобігти пошкодженню тканин кори мозку і витіканню цереброспінальної рідини [1]. Герметичне закриття твердої мозкової оболони корелює із зниженням частоти витікання ліквору і зі зменшенням кількості інфекційних ускладнень [2, 3]. Особливо гостро дана проблема постає після декомпресійної трепанації черепа з приводу тяжкої черепно-мозкової травми або гострого порушення мозкового кровообігу [4, 5]; під час операцій на основі черепа та задній черепній ямці, коли створюється дефект ТМО в результаті застосування біполярної коагуляції; при хірургічному лікуванні менингіом з резекцією частини ТМО [6]; в спінальній нейрохірургії [7]. У такій ситуації виникає необхідність використання замітника ТМО.

Вивчення замітників ТМО триває понад століття. Ще у 1924 році W. Penfield була висунута концепція «ідеального замітника» ТМО [8, 9], яка здобула подальший розвиток, наприклад, у роботі Арутюнова О. І., Месхія Н. Ш. [10] Замітник повинен бути нетоксичним, має піддаватися біодеградації, бути придатним для накладення швів, не призводити до утворення спайок або інфікування, мати можливість створювати водонепроникний бар'єр, бути економічно доступним [11, 12] і, в особливих випадках при проникаючій травмі, мати антибактеріальні властивості. Розвиток сучасних нових полімерних матеріалів дає поштовх до пошуку нових можливостей у створенні ефективного замітника ТМО [11].

Для покращення закриття ТМО були протестовані різні матеріали аутологічного, алогенного, ксеногенного і синтетичного походження [12-14]. Аутологічні трансплантати нетоксичні, швидко вбудовуються в нативні тканини, гнучкі, міцні і легко зшиваються [15-17]. Однак, недостатність доступного аутоотрансплантата, додаткові розрізи для його отримання ускладнюють їх використання [14]. Доцільність використання тканини алотрансплантата була переглянута після публікації повідомлень, що пов'язують пересадку тканини твердої мозкової оболони з хворобою Крейтцфельда-Якоба (трансмісивною губчастою енцефалопатією) [10]. Таким чином, ксеногенні і синтетичні матеріали стають альтернативою для нейрохірургії.

Одним з перспективних матеріалів для розробки ксеногенного замітника ТМО може бути хітозан. Він є біодеградуючим, не токсичним, має антибактеріальні та протигрибкові властивості [18] і тому розглядається як перспективний для створення ефективного замітника ТМО [13].

Були запропоновані кілька методик для розробки замітника ТМО на основі хітозану. Хітозан як біополімер дозволяє створювати двошарові мембрани з пористою і непористою частинами. Така модель з хітозану за товщиною, структурними та функціональними характеристиками нагадує ТМО і має більшу міцність на розрив, ніж колагенова матриця. Доцільність створення двошарової хітозанової матриці полягає в наступному: (а) в пористій частині через взаємопов'язані структури пор діють фактори росту, відбувається міграція клітин і неоваскуляризація, проте цей шар нестійкий до механічних навантажень; (б) непориста частина забезпечує більшу стійкість до навантажень, на неї можна накладати шви [13].

Для покращення структурно-механічних властивостей хітозанових матеріалів перспективним є дослідження, які спрямовані на розробку різноманітних композитних систем на основі хітозану та інших полімерів [19]. Був розроблений замітник ТМО у вигляді сітки з полімолочної кислоти і хітозану [20]. Широке і більш ефективне використання хітозану можна очікувати з впровадженням електроспінінгу для отримання нановолоконних матеріалів. Тонкі нановолокна можуть бути отримані в сумішах хітозану з полівініловим спиртом, желатином або колагеном, фіброїном шовку, полікапролактоном, поліетиленоксидом (ПЕО) [21]. ПЕО має гарну прядильність, низьку токсичність і його взаємодія з хітозаном покращує технічну обробку останнього при виготовленні полімерних плівок [21], є біодеграду-

ючим полімером [22]. Він схвалений для використання в системах доставки ліків Управлінням за контролю за продуктами і ліками (FDA) США [23]. Враховуючи перспективність композитного матеріалу хітозану з ПЕО [24] із можливістю регулювання в широкому діапазоні гідрофільних властивостей, фізико-механічних характеристик [21], нами була відібрана для дослідження модель замітника ТМО ксеногенного (хітозан) і синтетичного (поліетиленоксид) походження.

**МЕТА РОБОТИ** – дослідити в лабораторних умовах фізичні і фізико-хімічні властивості композитної хітозан/поліетиленоксидної плівки та можливість застосування біополімерних плівок на основі хітозану для пластики твердої мозкової оболони в умовах експерименту; проаналізувати її здатність до біодеградації; оцінити вплив даної біополімерної плівки на регенерацію твердої мозкової оболони.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для проведення дослідження були обрані білі щури. Тварини утримувалися у стандартних умовах віварію за природної змінності циркадного світлового циклу та харчування збалансованим комбінованим кормом *ad libitum*. Хірургічна частина експерименту і виведення тварин з експерименту були проведені згідно правил біоетики, регламентованих Директивою 2010/63/ЄС «Про захист тварин, які використовуються в наукових цілях» (2010) та Законом України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006). Проведення дослідження схвалене Комітетом з біоетики ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України» (протокол № 18 від 10.06.2016.).

**Методика хірургічної частини експерименту.** Для проведення хірургічної процедури було відібрано 15 щурів-самців віком 12 міс. і масою 250-300 г, яким після краніотомії та нанесення пенетраційної травми мозку [25] проведена пластика ТМО композитною плівкою на основі хітозан/ПЕО. Піддослідні тварини розподілені на групи по 5 тварин в кожній: перша – для гістологічного дослідження, друга – для макроскопічного і інфрачервоного (ІЧ) спектроскопічного дослідження, третя – група інтактних тварин (у тварин даної групи були взяті зразки нативної ТМО для аналізу методом ІЧ спектроскопії). Операцію проводили під загальним знеболенням – внутрішньом'язово вводили розчин ксилазину – Sedazin (*Biowet*, Польща), 15 мг/кг та кетаміну – Calipsol (*Gedeon Richter*, Угорщина), 70 мг/кг маси тіла. Після видалення шерстистого покриву голови і дезінфекції 10 % розчином Betadine (*Egis*, Угорщина) проводили розріз по середній лінії і оголювали кістки склепіння черепа. Формували трепанаційний отвір розміром 4 на 7 мм в правій тим'яній ділянці за допомогою високошвидкісного дрилу. Кістковий клапоть відсепарували від підлеглої твердої мозкової оболони і видаляли. ТМО обережно розсікали хрестоподібно від середини отвору до його кутів. Оголювали поверхню мозку і проводили penetрацію кори головного мозку голкою G18 на глибину 2 мм.

Клапти ТМО укладали на місце без ушивання з діастазом між краями, покривали їх хітозан/поліетиленоксидною плівкою без кісткового клаптя. Таким чином було змодельовано декомпресивну трепанацію черепа. Після забезпечення гемостазу рану ушивали шовним матеріалом вікріл № 5 і обробляли розчином бетадіну. Проводили антибіотикопрофілактику (цефтріаксон внутрішньом'язово 20 мг/кг). Тварин виводили з експерименту на 21 день шляхом декапітації під наркозом із застосуванням кетаміну 0,1 % 2 мл.

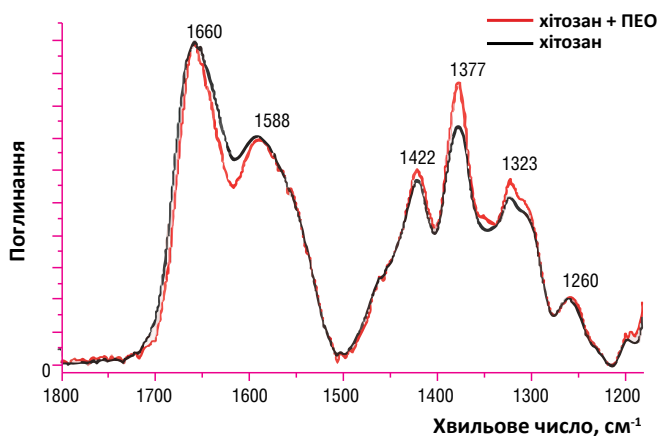
**Синтез і відбір полімерних композитних плівок.** Для пластики ТМО було запропоновано кілька варіантів біополімерних плівок на основі хітозану: нативні (плівка складається зі 100 % хітозану); композитна хітозан/поліетиленоксидна плівка з рівними масовими частками складників (хітозан/ПЕО 1/1 мас. %) і композитна хітозан/поліетиленоксидна плівка з масовою часткою хітозану 70 % (хітозан/ПЕО 7/3 мас. %). Синтез і нижчезазначені лабораторні дослідження були проведені в Інституті хімії поверхні ім. О. О. Чуйка.



**Рис. 1.** Скануюча електронна мікроскопія плівок із хітозану (А, мітка 20 мкм), хітозан/ПЕО 1/1 мас. % (Б, мітка 1 мкм) та хітозан/ПЕО 7/3 мас. % (В, мітка 3 мкм).

ЗРАЗОК	СТУПІНЬ НАБУХАННЯ, % МАСИ
Хітозан	230,34
Хітозан/ПЕО 1/1 мас. %	140,30*
Хітозан/ПЕО 7/3 мас. %	150,92

**Таблиця 1.** Здатність до водопоглинання полімерних композитів  
Примітка: \* –  $p < 0,05$  в порівнянні з хітозаном.



**Рис. 2.** Спектри плівок із хітозану (чорна крива), хітозан/ПЕО 7/3 мас. % (червона крива).

Нативні та композитні плівки готували методом випаровування розчинника після нанесення відповідного формуючого полімерного розчину на скляне покриття. Формувальні розчини готували розчиненням хітозану, ПЕО в 2 мас. % розчині оцтової кислоти при перемішуванні в магнітній мішалці протягом 12 годин. Після формування плівки висушували при кімнатній температурі протягом 12 год. Після завершення процесу сушіння плівки легко відшаровували і поміщали в 1,0 М розчин гідроксиду натрію протягом кількох годин для нейтралізації надлишкової оцтової кислоти з подальшим інтенсивним промиванням дистильованою водою. По завершенню процедури, плівки висушували при кімнатній температурі протягом 24 год. В подальшому було проведено ґрунтовне дослідження структури отриманих плівок, їх водопоглинальної здатності та проведено спектральний аналіз. Структуру поверхні синтезованих композитних полімерних плівок досліджували за допомогою скануючого електронного мікроскопа Quanta™ 3D FEG (FEI, США) (рис. 1).

Також запропонованим замінникам ТМО було проведено лабораторне дослідження їх водопоглинальної здатності (табл.1). Це дуже важливий параметр, оскільки за умови високого ступеня гідрофільності імплантата ТМО може виникнути ризик стиснення мозкової тканини [13].

Були проаналізовані ІЧ-спектри (рис. 2) досліджуваних зразків із хітозану, хітозан/ПЕО 1/1 мас. %, хітозан/ПЕО 7/3 мас. %. Дані отримані за допомогою інфрачервоного Фур'є спектрометра Nicolet Nexus 450 (Thermo Scientific, США) в середньому інфрачервоному діапазоні 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ .

Хітозан відноситься до класу полісахаридів з мономерною ланкою N-ацетил-1,4-b-D-глюкопіранозамин. Інфрачервоний спектр чистого (нативного) хітозану має характерні смуги поглинання в області 3400  $\text{cm}^{-1}$ , що відносяться до ОН водневопов'язаних молекулярних груп, а також валентні коливання СН в області 2900-2800  $\text{cm}^{-1}$ . Поглинання в області 1660 відноситься до С=О валентних коливань разом з незначним вкладом деформаційних коливань  $\text{NH}_2$ , а смугу в області 1588 відносимо власне до  $\text{NH}_2$  деформаційних коливань. Область 1400-1300 є характерною для деформаційних коливань молекулярних груп СН [27-29]. У плівці з ПЕО спостерігаємо зростання вкладу валентних коливань СН в області 2800-2900  $\text{cm}^{-1}$  та деформаційних СН в області 1400-1300  $\text{cm}^{-1}$ , однак жодних частотних зсувів при утворенні комплексу хітозан-ПЕО не спостерігається, що свідчить про відсутність міжмолекулярних взаємодій між компонентами полімерної плівки [29-31].

Таким чином із запропонованих зразків біополімерних плівок на основі хітозану була обрана композитна плівка хітозан/ПЕО 7/3 мас. %, оскільки шорсткість даного зразка порівняно з іншими є максимальною (за даними електронної мікроскопії). Також він мав менший ступінь набухання, порівняно з нативною хітозановою плівкою, і при цьому майже не відрізнявся за ступенем набухання від плівки хітозан/ПЕО 1/1 мас. %. Шорсткість поверхні плівок є визначальною властивістю для відбору матеріалу, оскільки в такому випадку ефективніше відбувається колонізація і проліферація клітин в біополімерному матеріалі [33, 34].

Післяопераційний матеріал тварин досліджуваної групи і зразки нативної ТМО контрольної групи були проаналізовані методом ІЧ спектроскопії. Для аналізу ІЧ спектрів поглинання відбирали зразки тканин з області проведеної операції імплантації замінника ТМО з 5 місць від кожної тварини об'ємом до 0,5  $\text{mm}^3$ . Для контролю та порівняння експериментальних зразків були відібрані аналогічні зразки тканин з твердої мозкової оболони над протилежною півкулею у цих же тварин, де травма не моделювалася і оболони мозку залишалися інтактними. Були зроблені тонкі зрізи тканин післяопераційного матеріалу, після чого вони висушувались при кімнатній температурі між двома пластинками флюоритового скла ( $\text{CaF}_2$ ), прозорого в інфрачервоній області. Далі отримані плівки на підкладках  $\text{CaF}_2$  були поміщені в кюветну камеру спектрометра IFS 66 (Bruker, США) для реєстрації спектрів поглинання.

Методом інфрачервоної спектроскопії проаналізовано спектри поглинання нативної ТМО, рубцевої тканини, та використаної плівки з регенеруючої ТМО в широкому спектральному діапазоні (3400-800  $\text{cm}^{-1}$ ) і визначено набір спектроскопічних маркерів для аналізу. Найбільш інформативною для аналізу є область поглинання амідних зв'язків Амід I та Амід II в діапазоні 1750-1480  $\text{cm}^{-1}$ . Формування адгезії макроскопічно оцінювали відповідно до системи «Strucker» (табл. 2) [35].

Після виведення тварини з експерименту з зони операції єдиним блоком були взяті тканини та імпланти для гістологічного досліджен-

ня. Отриманий матеріал фіксували у розчині нейтрального формаліну зростаючої концентрації 5-7-10 % не більше 24 годин і проводили стандартну заливку в парафінові блоки. З отриманих блоків на мікромомі HM430 (*Microm*, Німеччина) готували серійні зрізи завтовшки 5-7 мкм, які забарвлювали гематоксилін-еозин. Гістологічні препарати досліджували на біокулярному мікроскопі з наступною мікрофотофіксацією на світлооптичному фотомікроскопі AxioPhot (*Carl Zeiss*, Німеччина) при збільшенні об'єктива  $\times 100$  і  $\times 200$ , окуляра  $\times 10$  з перехідником  $\times 2$ . Зрізи тканини оцінювали щодо локальної реакції тканини, крововиливу, клітинних змін в корі, наявності імплантату, новоутвореної ТМО або рубцевої тканини.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного пакету STATISTICA 10.0 (*StatSoft Inc.*, США). Статистичну значущість відмінності показників між групами визначали за допомогою U-тесту Манна-Уїтні. У всіх випадках припущення щодо статистичної значущості отриманого результату вважали правильним, якщо ймовірність нульової гіпотези була меншою ніж 0,05 ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У тварин групи хітозан/ПЕО візуально залишки плівки не виявляли, поверхня твердої мозкової оболони в зоні і поза зоною трепанації не відрізнялися, відзначали зрощення по периферії кісткового вікна, але зрощень в просвіті трепанаційного вікна виявлено не було (рис. 3). Утворення спайок між дефектом ТМО та залишками біополімерної плівки по оцінці виразності адгезії складало 0-1 бали.

У випадку застосування плівки на основі хітозану через три тижні після операції за спектральними характеристиками спостерігається присутність залишків цієї плівки у зразках, які бралися з ділянок ТМО в проекції кутів трепанаційного вікна і його центру (тобто в місцях її розрізів). У зразку регенеруючої ТМО (зелена крива) чітко видно плече в області  $1587 \text{ см}^{-1}$ , що безумовно належить плівці. Однак, разом з тим, у цьому зразку є явно виражена смуга Амід II на  $1550 \text{ см}^{-1}$ , характерна для білкової тканини (рис. 4). Це може свідчити про деградацію плівки на основі хітозану та відновлення тканин нормальної ТМО.

Показано, що методика ІЧ спектроскопії дозволяє проконтролювати динаміку процесу регенерації тканин ТМО. За даними аналізу ІЧ спектрів поглинання визначено спектральні маркери рубцевої тканини, регенеруючої ТМО та інтактної ТМО. Рубцева тканина суттєво відрізняється від тканин регенеруючої ТМО, зокрема присутністю смуги в області  $1739 \text{ см}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$ ), яка повністю відсутня в спектрах інтактної та регенеруючої ТМО, а також співвідношенням між смугами Амід I та Амід II в бік зменшення інтенсивності Амід II та звуження смуги Амід I у порівнянні зі зразком інтактної ТМО. У зразку регенеруючої ТМО виявлено присутність смуги деформаційних коливань  $\text{NH}_2$  на  $1589 \text{ см}^{-1}$ , яка відноситься до поглинання плівки на основі хітозану, а у зразках інтактної ТМО та рубцевої тканини вона відсутня. Однак присутність смуги в області  $1548 \text{ см}^{-1}$  (Амід II) свідчить про те, що на плівці є клітини, та дозволяє стверджувати, що відбуваються процеси регенерації.

Отримані дані підтверджуються гістологічними методами досліджень. Заміщення імплантату на 21-й день після пластики біополімерною плівкою на основі хітозану відбувалося шляхом формування молодшої фіброзної сполучної тканини з великою кількістю гіперхромних фібробластів і волокон колагену. Фібробласти мали як витягнуту, так і овальну форму. У деяких клітинах були відмічені паличкоподібні блідозабарвлені ядра (молоді форми фібробластів) (рис. 5). При цьому вираженість пучків колагенових волокон і шарів оточуючої новоутвореної сполучної тканини була неоднаковою. Пучки волокон, обернених до мозкової поверхні знизу, були тоншими від пучків волокон, що розміщувалися на зовнішній поверхні. Краї дефекту твердої мозкової оболони і новоутвореної фіброзної тканини чітко межі не мали. Крім того, не спостерігалось реакцій запального характеру.

### ОЦІНКА

### ОПИС

ОЦІНКА	ОПИС
0	Немає адгезії до прилеглої кори
1	Зрощений з корою, але відокремлюється, не викликаючи макроскопічних пошкоджень
2	Прилягає до кори, викликаючи відрив коркових судин при відділенні
3	Пошкодження кори мозку при піднятті кісткового клаптя



Таблиця 2. Оцінка адгезії матеріалу.

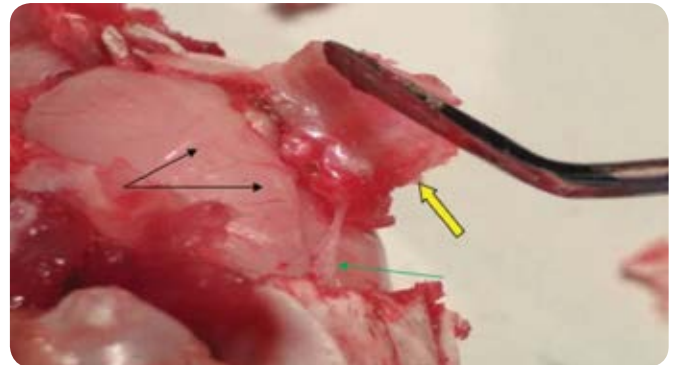


Рис 3. Макроскопічна картина черепа щура через 3 тижні після пластики ТМО біополімерною плівкою на основі хітозану. Незначно виражена спайкова тканина по периферії кісткового вікна (зелена стрілка), в місці укладання плівки спайки відсутні. Чорні стрілки – поверхня ТМО в ділянці операції, жовта стрілка – кістковий фрагмент склепіння черепа з зоною трепанаційного вікна (внутрішня поверхня), інші кістки склепіння черепа видалені.

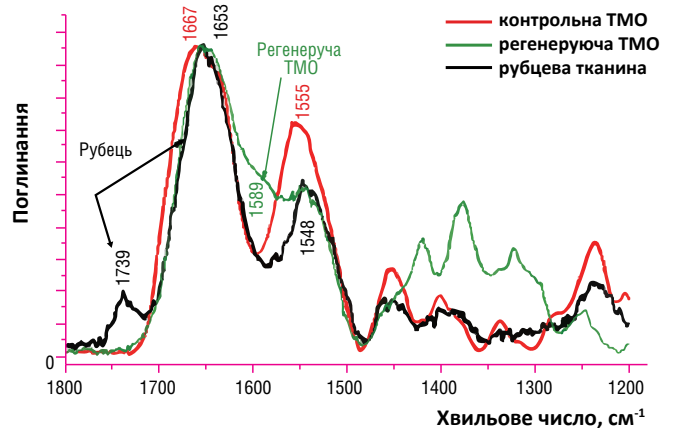


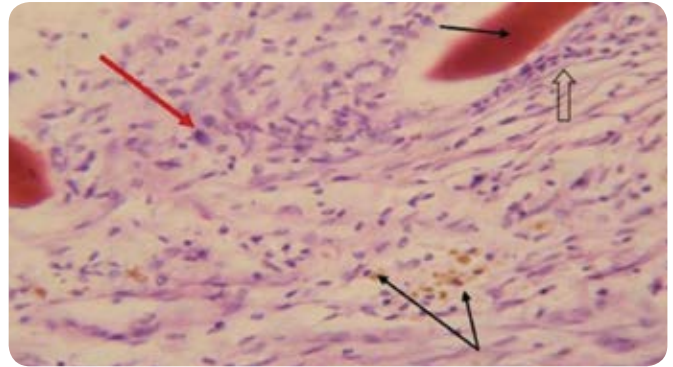
Рис. 4. Спектри поглинання зразків тканин ТМО після застосування плівки на основі хітозану.

Відмічено формування нижніх оболонно-мозкових зрощень. Підлягаюча тканина мозку виглядала типовою.

Отримані результати дослідження дозволяють позитивно оцінити ефективність застосування замітника твердої мозкової оболони хітозан/ПЕО 7/3 мас. % в експерименті на щурах. Можна припустити, що композитний замітник ТМО хітозан/ПЕО виконує спочатку функцію як міцний матричний матеріал, а в подальшому ПЕО деградує або вимивається з пор хітозану, куди проникають клітини, і надалі пористий матеріал служить для регенерації ТМО. Введення ПЕО в склад полімерної композиції викликало зменшення поглинання води. Збільшення вмісту ПЕО не суттєво знижувало набухання матеріалів.

Структура поверхні плівок сумішей хітозану/ПЕО залежить від вмісту поліетиленоксиду. Так, при вмісті ПЕО 30 мас. % формується більш шорстка поверхня плівки. Коли вміст ПЕО в композиті складає 50 мас. %, спостерігається зменшення шорсткості зразку та більш гомогенна поверхня. Це пояснюється проникненням макромолекул ПЕО в надмолекулярну структуру хітозану з одночасним заповненням в ній пор. Шорсткість поверхні імплантату може мати значення для покращеної адгезії до поверхні нативної ТМО для герметизації субдурального простору. Крім того, при ПЕО 30 мас. % зберігається більше пор для подальшого проникнення у них клітин.

Аналіз ІЧ-спектру плівок хітозан/ПЕО 1/1 мас. % і хітозан/ПЕО 7/3 мас. % показав, що при збільшенні складу ПЕО в суміші коливання амідних груп хітозану в області 1530 см<sup>-1</sup> та 1640 см<sup>-1</sup> поступово зміщується в область більш високих хвильових чисел. Можна припустити, що сильні взаємодії амідних груп між молекулами хітозану змінюються на менш сильні взаємодії N-H групи хітозану з неспареними електронами атомів кисню макромолекул поліетиленоксиду.



**Рис. 5.** Мікрофотографія препарату ТМО після пластики біополімерною плівкою хітозан/ПЕО 7/3 мас. %. Залишки хітозану (тонкі чорні стрілки) серед колонії фібробластів. Клітини округлої форми – молоді фібробласти (червона стрілка), видовжені клітини – зрілі фібробласти (прозора стрілка). Забарвлення гематоксилін-еозин, світлова мікроскопія, об'єктив x200, окуляр x10, перехідник x2.

## ВИСНОВКИ

1. **Хітозан/поліетиленоксидна біополімерна плівка (хітозан/ПЕО 7/3 мас. %) придатна до застосування для пластики твердої мозкової оболони в умовах експерименту.**
2. **За допомогою морфологічних (макроскопічний і гістологічний) та спектроскопічних (ІЧ-поглинання) методів показана здатність хітозан/поліетиленоксидної плівки до біодеградації.**
3. **Результати інфрачервоної спектроскопії і гістологічні дані свідчать про те, що в зоні укладання біополімерної плівки відбуваються процеси нормальної регенерації тканин ТМО, а не утворення рубцевої тканини.**
4. **Дані дослідження дозволяють зробити висновок про ефективність застосування досліджуваного матеріалу і його позитивний вплив на регенерацію ТМО у тварин.**

## СПИСОК ЦИТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. MacEwan M. R., Kovacs T., Osburn J., Ray Wilson Z. Comparative analysis of a fully-synthetic nanofabricated dura substitute and bovine collagen dura substitute in a large animal model of dural repair. *Interdiscip Neurosurg.* 2018. **13**. P. 145–150. doi: 10.1016/j.inat.2018.05.001.4.
2. Matula C., Kjaersgaard L., Di Ieva A. Watertight dural closure in brain surgery: a simple model for training. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg.* 2014. **75**, № 3. P. 241–5. doi: 10.1055/s-0033-1342928.
3. Abuzayed B., Kafadar A. M., Oguzoglu S. A., Canbaz B., Kaynar M. Y. Duraplasty using autologous fascia lata reinforced by on-site pedicled muscle flap: technical note. *J Craniofac Surg.* 2009. **20**, № 2. P. 435–8. doi: 10.1097/scs.0b013e31819b968f.
4. Hongtao Sun, Hongda Wang, Yunfeng Diao, Yue Tu, Xiaohong Li, Wanyong Zhao, et al. Large retrospective study of artificial dura substitute in patients with traumatic brain injury undergo decompressive craniectomy *Brain Behav.* 2018. **8**, № 5. P. e00907. doi: 10.1002/brb3.907.
5. Miyake S., Fujita A., Aihara H., Kohmura E. New technique for decompressive duraplasty using expanded polytetrafluoroethylene dura substitute—technical note. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2006. **46**, № 2. P. 104–6. PMID: 16498223 DOI: 10.2176/nmc.46.104.
6. Schmalz P., Griessenauer C., Ogilvy C. S., Thomas A. J. Use of an absorbable synthetic polymer dural substitute for repair of dural defects: a technical note. *Cureus.* 2018. **10**, № 1. P. e2127. doi: 10.7759/cureus.2127.
7. Hoell T., Hohaus C., Huschak G., Beier A., Meisel H. J. Total dura substitute in the spine: double layer dural substitute made from polylactide layer and bovine pericardium. *Acta Neurochir (Wien).* 2007. **149**, № 12. P. 1259–62. doi: 10.1007/s00701-007-1414-8.
8. Narotam P. K., Van Dellen J. R., Bhoola K., Raidoo D. Experimental evaluation of collagen sponge as a dural graft. *Br J Neurosurg.* 1993. **7**, № 6. P. 635–41. doi: 10.3109/02688699308995092.
9. Pettorini B. L., Tamburrini G., Massimi L., Paternoster G., Caldarelli M., Di Rocco C. The use of a reconstituted collagen foil dura mater substitute in paediatric neurosurgical procedures – Experience in 47 patients *Br J Neurosurg.* 2010. **24**, № 1. P. 51–4. doi: 10.3109/02688690903386991.
10. Azzam D., Romiyu P., Nguyen T., Sheppard J. P., Alkhalid Y., Lagman C, et al. Dural Repair in Cranial Surgery Is Associated with Moderate Rates of Complications with Both Autologous and Nonautologous Dural Substitutes. *World Neurosurg.* 2018. **113**. P. 244–248. doi: 10.1016/j.wneu.2018.01.115.
11. Арутюнов А. И., Месхия Н. Ш. Некоторые актуальные вопросы пластики дефектов твердой мозговой оболочки. *Вопросы нейрохирургии.* 1972. **3**. С. 3–9.
12. Kizmazoglu C., Aydin H. E., Kaya I., Atar M., Husemoglu B., Kalemci O., et al. Comparison of Biomechanical Properties of Dura Mater Substitutes and Cranial Human Dura Mater: An In Vitro Study *J Korean Neurosurg Soc.* 2019. **62**, № 6. P. 635–642. doi: 10.3340/jkns.2019.0122.
13. Rosen C. L., Steinberg G. K., DeMonte F., Delashaw J. B. Jr., Shaffrey M. E., Aziz K, et al. Results of the prospective, randomized, multicenter clinical trial evaluating a biosynthesized cellulose graft for repair of dural defects. *Neurosurg.* 2011. **69**, № 5. P. 1093–103. doi: 10.1227/NEU.0b013e3182284aca.
14. Sandoval-Sanchez J. H., Ramos-Zuniga R., de Anda S. L., et al. A new bilayer chitosan scaffolding as a dural substitute: experimental evaluation. *World neurosurgery.* 2012. **77**, № 3–4. P. 577–582. doi:10.1016/j.wneu.2011.07.007.
15. Lam F. C., Kasper E. Augmented autologous pericranium duraplasty in 100 posterior fossa surgeries—a retrospective case series. *Neurosurgery.* 2012. doi:10.1227/NEU.0b013e31826a8ab0.

16. Hoover D. A., Mahmood A. Ossification of autologous pericranium used in duraplasty. Case report. *J Neurosurg.* 2001. **95**, № 2. P. 350-352. doi:10.3171/jns.2001.95.2.0350.
17. Stevens E. A., Powers A. K., Sweasey T. A., Tatter S. B., Ojemann R. G. Simplified harvest of autologous pericranium for duraplasty in Chiari malformation Type I. Technical note. *J Neurosurg Spine.* 2009. **11**, № 1. P. 80-83. doi:10.3171/2009.3.SPINE08196.
18. Warren W. L., Medary M. B., Dureza C. D., et al. Dural repair using acellular human dermis: experience with 200 cases: technique assessment. *Neurosurgery.* 2000. **46**, № 6. P. 1391-1396. doi:10.1097/00006123-200006000-00020.
19. Verlee A., Mincke S., Stevens C. V. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydr Polym.* 2017. **164**. P. 268-283. doi:10.1016/j.carbpol.2017.02.001.
20. Масленнікова Л. Д. Полімерні композити. Київ, 2011. 300 с.
21. Guo W., Guo Q., Zhang S., Li J. Manufacturing of artificial dura mater with chitosan polylactic acid. *Chin J Clin Rehabil.* 2005. **9**. P. 24-25.
22. Mengistu Lemma S., Bossard F., Rinaudo M. Preparation of Pure and Stable Chitosan Nanofibers by Electrospinning in the Presence of Poly (ethylene oxide). *IJMS.* 2016. **17**, № 11. P. 1790.
23. Reed A. M., Gilding D. K. Biodegradable polymers for use in surgery—Poly(ethylene oxide)/poly(ethylene terephthalate) (PEO/PET) copolymers: 2. *In vitro* degradation. *Polymer.* 1981. **22**. P. 499–504.
24. Kumari A., Yadav S. K., Yadav S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2010. **75**, № 1. P. 1-18. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.09.001.
25. Zivanovic S., Li J., Davidson P. M., Kit K. Physical, mechanical, and antibacterial properties of chitosan/PEO blend films. *Biomacromolecules.* 2007. **8**, № 5. P. 1505-1510. doi:10.1021/bm061140p.
26. Basu A., Krady J. K., O'Malley M., Styren S. D., DeKosky S. T., Levison S. W. The type 1 interleukin-1 receptor is essential for the efficient activation of microglia and the induction of multiple proinflammatory mediators in response to brain injury. *J Neurosci.* 2002. **22**, № 14. P. 6071-6082. doi:10.1523/JNEUROSCI.22-14-06071.2002.
27. Dimzon I. K., Knepper T. P. Degree of deacetylation of chitosan by infrared spectroscopy and partial least squares. *Int J Biol Macromol.* 2015. **72**. P. 939-945. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.09.050.
28. Kumirska J., Czerwicka M., Kaczyński Z., et al. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Mar Drugs.* 2010. **8**, № 5. P. 1567-1636. doi:10.3390/md8051567.
29. Paluszkiwicz C., Stodolak E., Hasik M., Blazewicz M. FT-IR study of montmorillonite-chitosan nanocomposite materials. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2011. **79**, № 4. P. 784-788. doi:10.1016/j.saa.2010.08.053.
30. Park H. J., Lee J. S., Lee O. J., et al. Fabrication of microporous three-dimensional scaffolds from silk fibroin for tissue engineering. *Macromol Res.* 2014. **22**. P. 592–599. doi.org/10.1007/s13233-014-2083-0.
31. Yiin-Kuen Fuh, Shengzhan Chen, Jason S. C. Jang. Direct-write, Well-aligned Chitosan-Poly (ethylene oxide) Nanofibers Deposited via Near-field Electrospinning, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry.* 2012. **49**, № 10. P. 845-850. doi: 10.1080/10601325.2012.714676
32. Zivanovic S., Li J., Davidson M., Kit K. Physical, Mechanical, and Antibacterial Properties of Chitosan/PEO Blend Films. *Biomacromolecules.* 2007. **8**. P. 1505-1510. doi.org/10.1021/bm061140p.
33. Katalinich M. Characterization of Chitosan Films for Cell Culture Applications. The University of Maine, 2001.
34. Foster L. J., Ho S., Hook J., Basuki M., Marçal H. Chitosan as a Biomaterial: Influence of Degree of Deacetylation on Its Physicochemical, Material and Biological Properties. *PLoS One.* 2015. **10**, № 8. P. 0135153. doi:10.1371/journal.pone.0135153.
35. Pre-Clinical Evaluation of Collagen Dura Substitutes in a Rabbit Duraplasty Model: DuraMatrix Suturable. 2015. <https://cmf.stryker.com/assets/files/3i/duramatrix-suturable---white-paper.pdf>



СТАТТЯ НА САЙТІ  
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автори заявили про відсутність потенційного конфлікту інтересів щодо дослідження, авторства та/або публікації даної статті.