



**Федеральное государственное военное образовательное учреждение высшего
профессионального образования
Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова**

Физические методы исследования компонентного состава тканеинженерного продукта из пуповины человека для заживления ран

Товпеко Дмитрий Викторович

младший научный сотрудник (военной терапии) научно-исследовательского отдела (экспериментальной медицины) НИЦ

Научный руководитель:
д.м.н., доц. Калюжная-Земляная Лидия Ивановна
старший научный сотрудник
Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова

Санкт-Петербург
2023

Актуальность

Рост военных конфликтов, количества стихийных бедствий, производственных и бытовых травм приводит к увеличению больных с поражениями мягких тканей и кожи.

Разработка лекарственных препаратов и медицинских изделий, стимулирующих регенеративные процессы и повышающих эффективность традиционных схем лечения, с возможностью их применения на ранних этапах медицинской эвакуации определяют актуальность исследований в данной области.



Тканевая инженерия – окно в современную медицину

Источник ткани	Источник вида	Продукты
Дерма	Человек	Alloderm® (Lifecell), AlloMax™ (Bard Davol), GraftJacket®
Дерма	СВИНЬЯ	Strattice™ (Lifecell), XenMatrix™ (Bard Davol)
Дерма	БЫК	TissueMend® (Stryker), Veritas® (Synovis)
Перикард	Человек	IOPatch™ (IOP)
Перикард	Лошадь	OrthAdapt® (Synovis)
Перикард	БЫК	CopiOs® (Zimmer Inc), Perimount® (Edwards Lifesciences)
Тонкая кишка	СВИНЬЯ	Surgisis® (Cook Biotech), Restore® (DePuy Orthopaedics), FortaFlex® (Integra LifeSciences)
Мочевой пузырь	СВИНЬЯ	MatriStem® (ACell)



Badylak S.F. *Ann Biomed Eng.* 2014;42:1517–1527. doi: 10.1007/s10439-013-0963-7

Уникальные особенности пуповины человека



Наличие молекул для регенеративного (безрубцового) заживления ран:

ростовые факторы Fetal TGF- β_3 / Adult TGF- $\beta_{1,2}$; FetalVEGF/AdultVEGF и PDGF;

Особенности структурных компонентов:

Fetal CoL III:I>Adult CoLI:III, мало коллагеновых сшивков, FetalHA(HMW)>AdultHA(LMW);

Особенности цитокиновой регуляции:

доминирование противовоспалительного IL-10 над провоспалительными IL-6, IL-8.

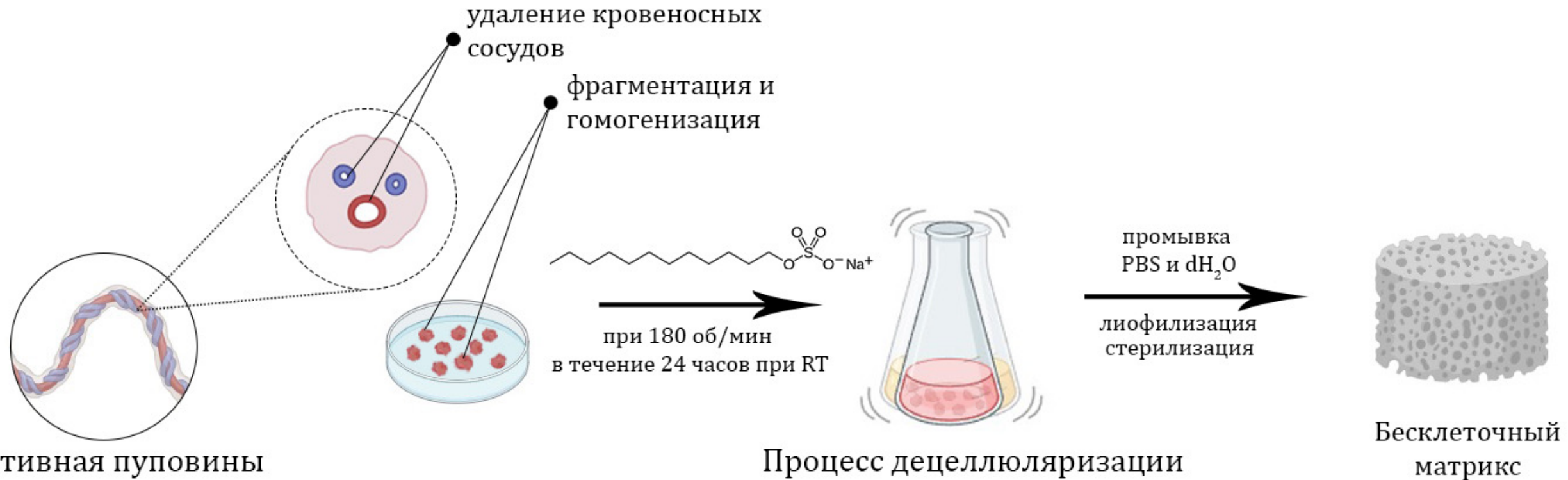
Beiki B., Zeynali B., Seyedjafari E. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* 2017;78:627–638. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.074

Цель исследования

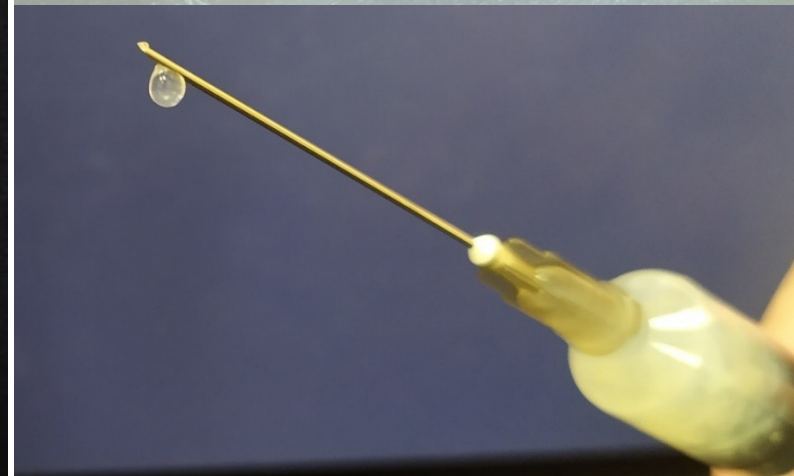
Оценить компонентный состав тканеинженерного продукта из пуповины человека для заживления ран различными физическими и физико-химическими методами



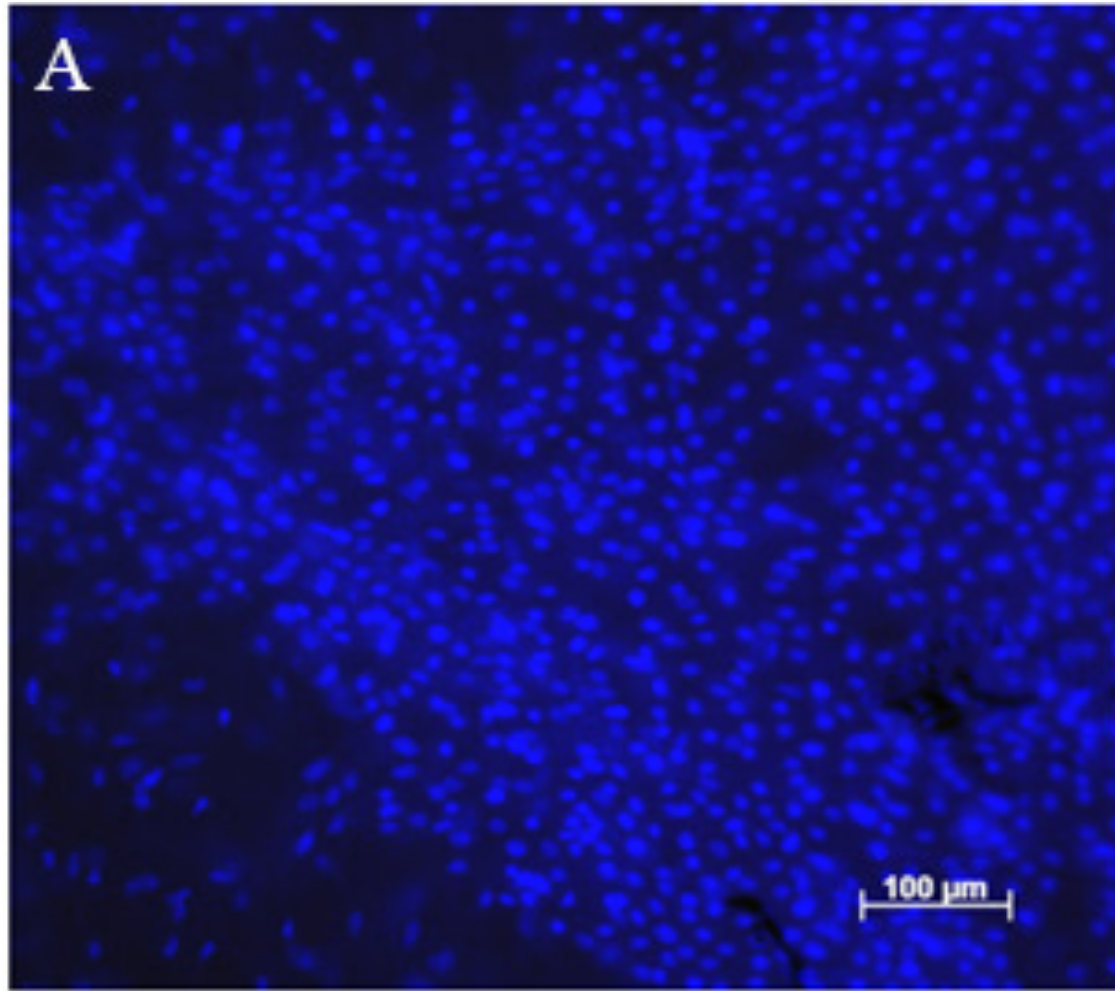
Основные этапы получения тканеинженерных продуктов



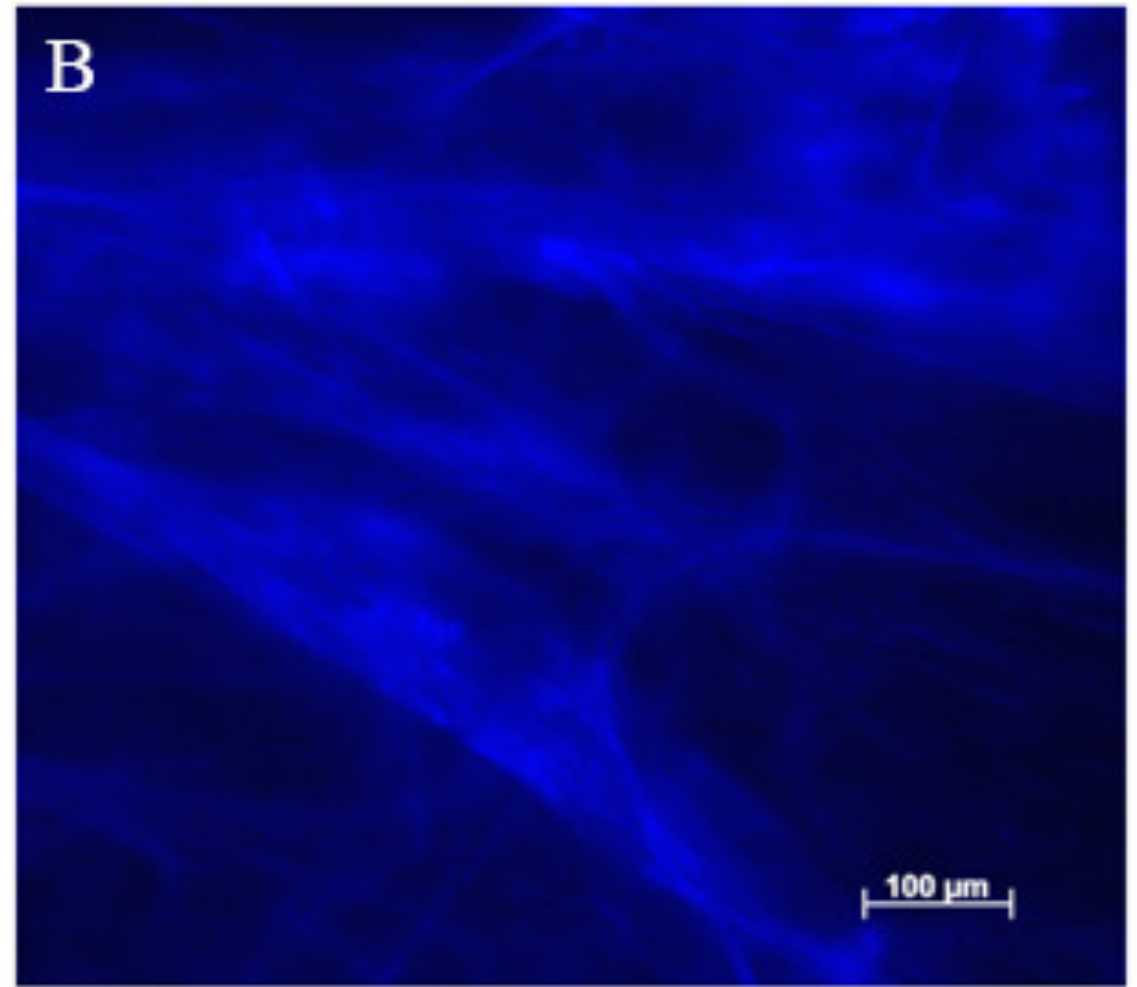
Разработанные продукты из пуповины человека



Оценка эффективности удаления клеток из продукта

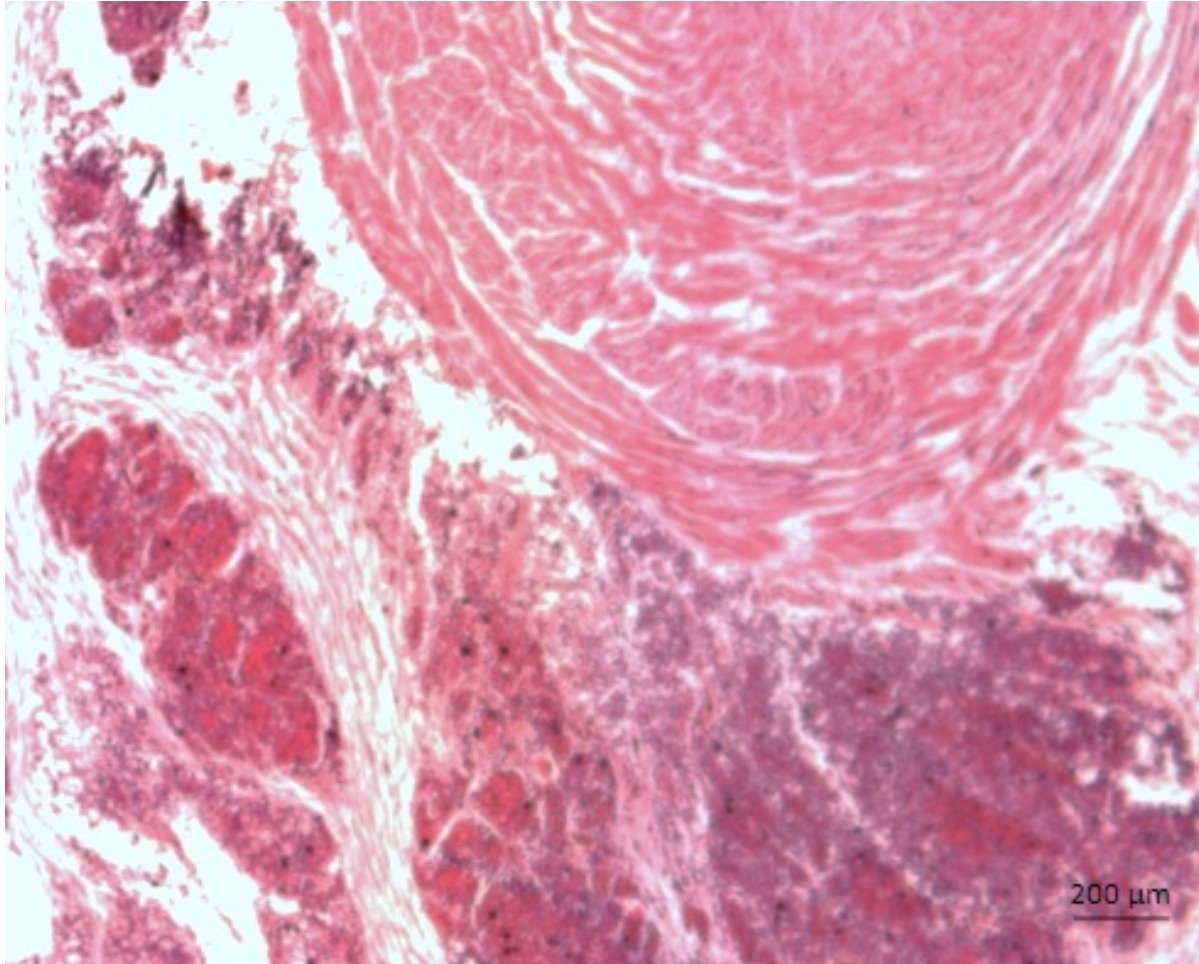


Нативная пуповина (А)

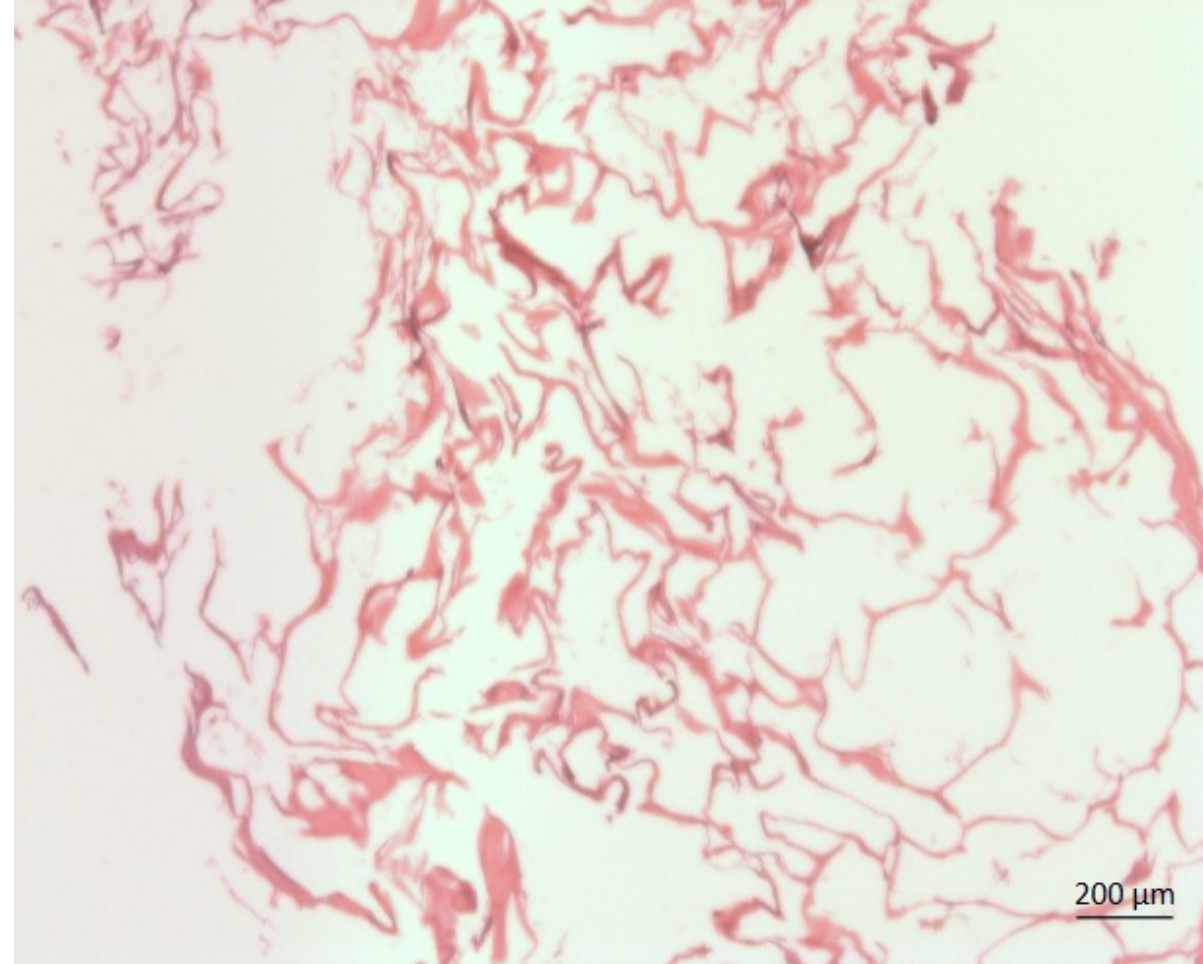


Материал после децеллюляризации (В)

Оценка эффективности удаления клеток из продукта

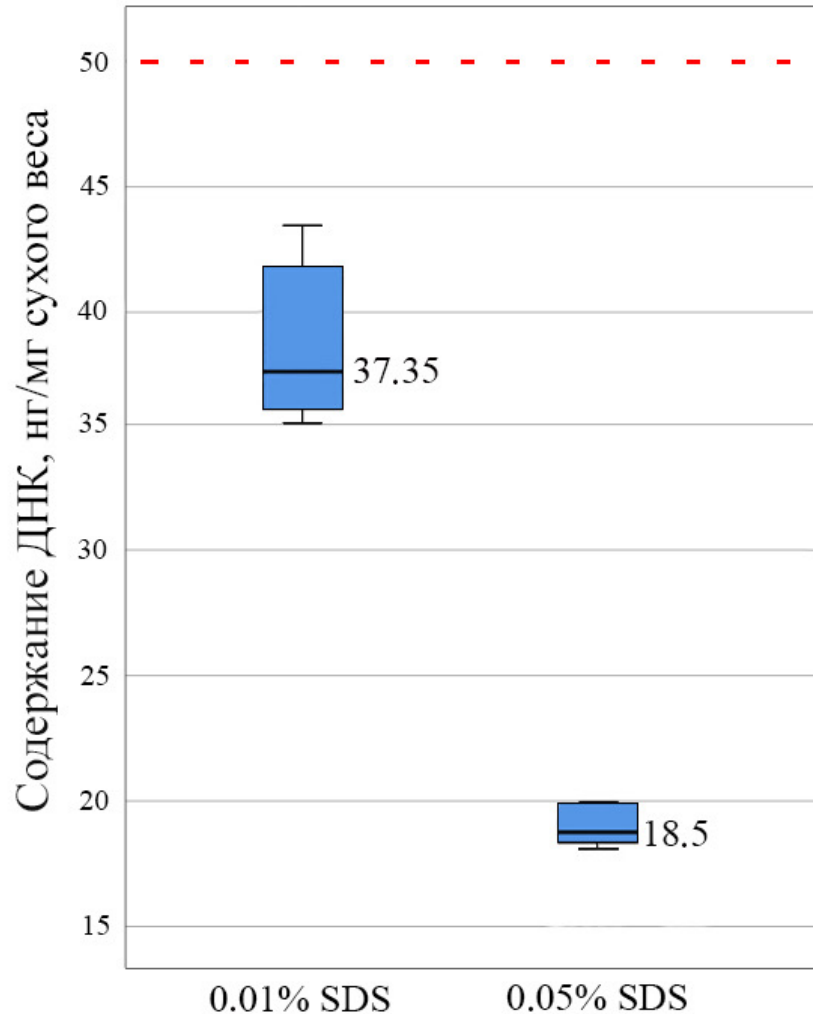


Нативная пуповина (A)



Материал после децеллюляризации (B)

Оценка эффективности удаления ДНК из продукта

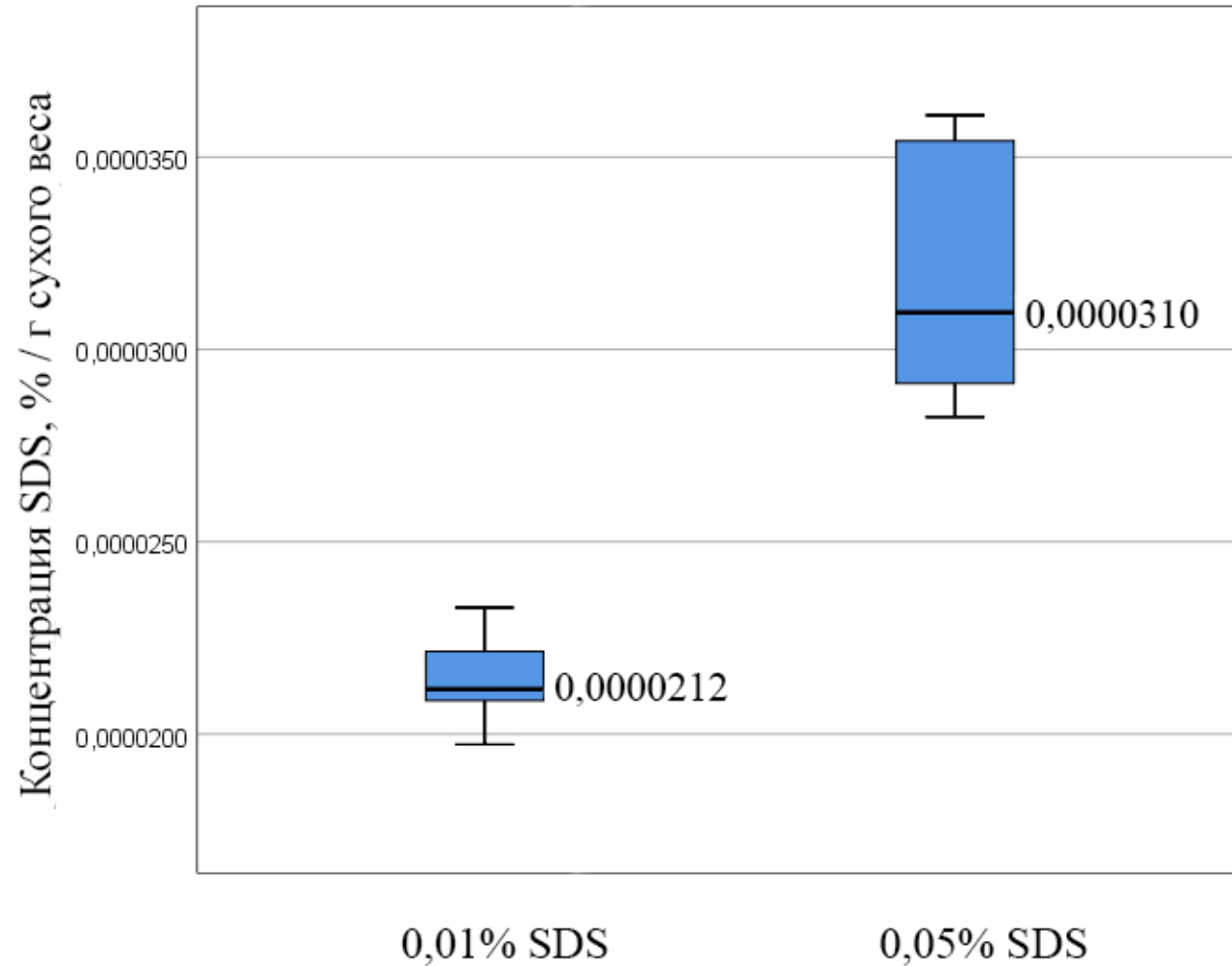


Минимальные критерии качественной децеллюляризации – количественное содержание ДНК менее **50 нг/мг сухого веса внеклеточного матрикса***

Соответствие минимальным критериям качественной децеллюляризации позволяет предотвратить нежелательную реакцию иммунной системы.

* Crapo P.M., Gilbert T.W., Badylak S.F. *Biomaterials*. 2011;32(12):3233-3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057

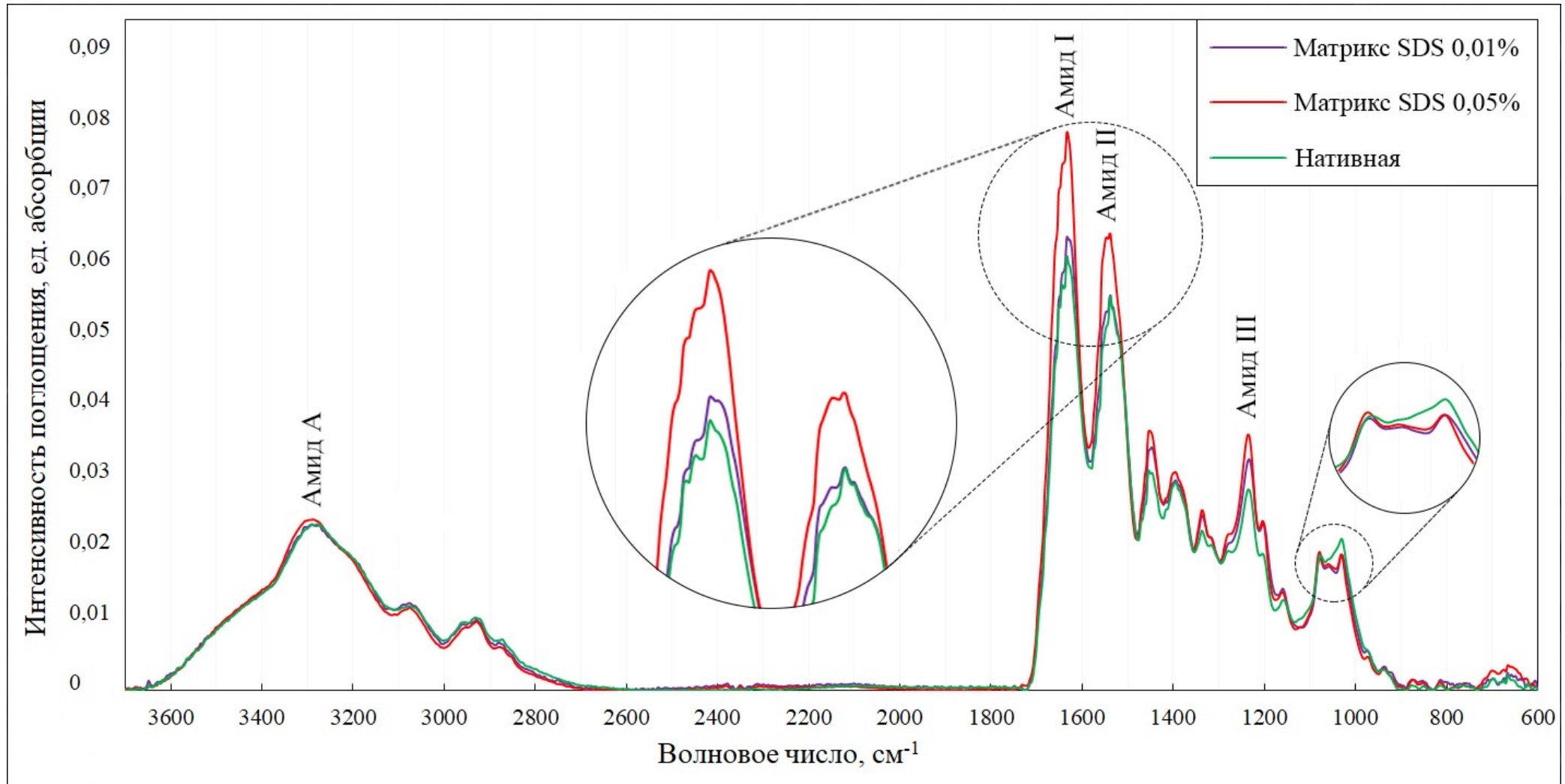
Оценка эффективности удаления детергента из продукта



Концентрация детергента менее 0,002% можно использовать в качестве приемлемого уровня для получения неиммунногенного продукта.

Детергент не будет оказывать токсического действия при имплантации продукта в поврежденные ткани.

Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье



Количественное определение общего коллагена

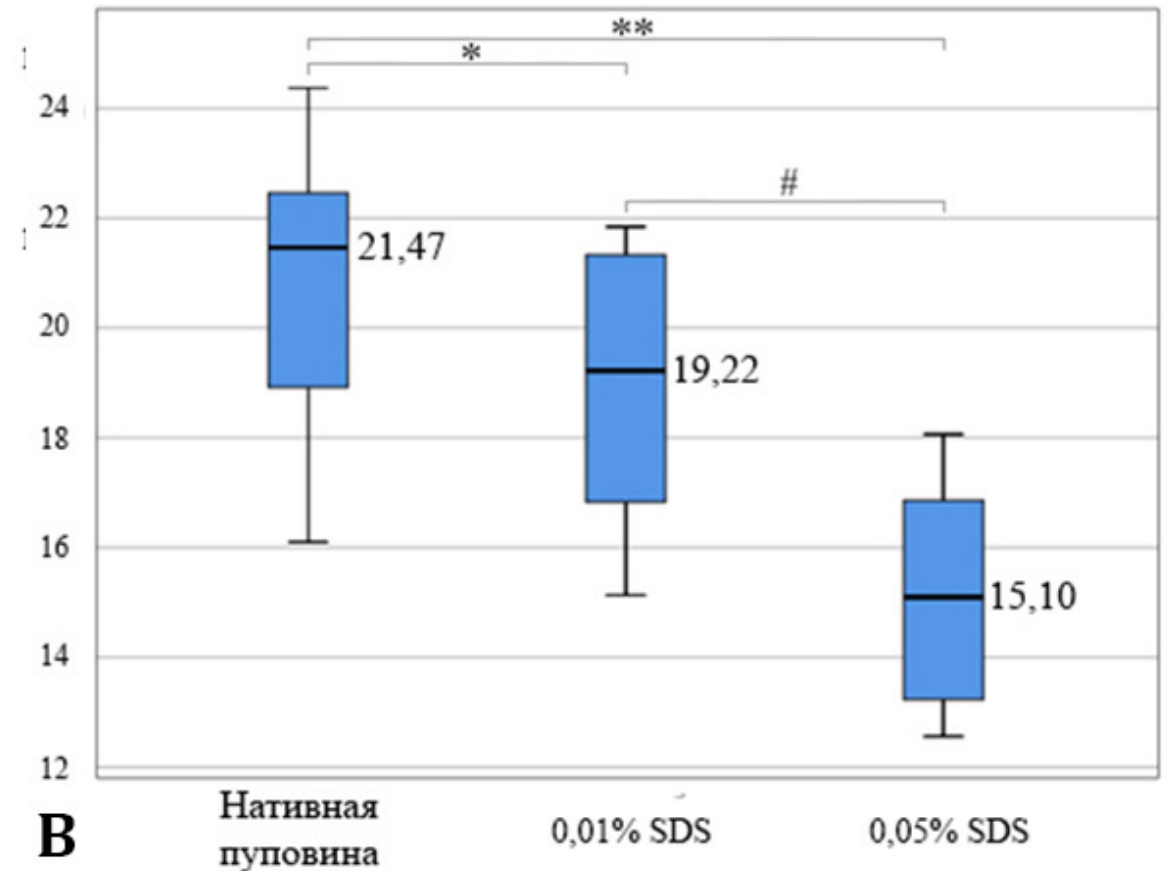
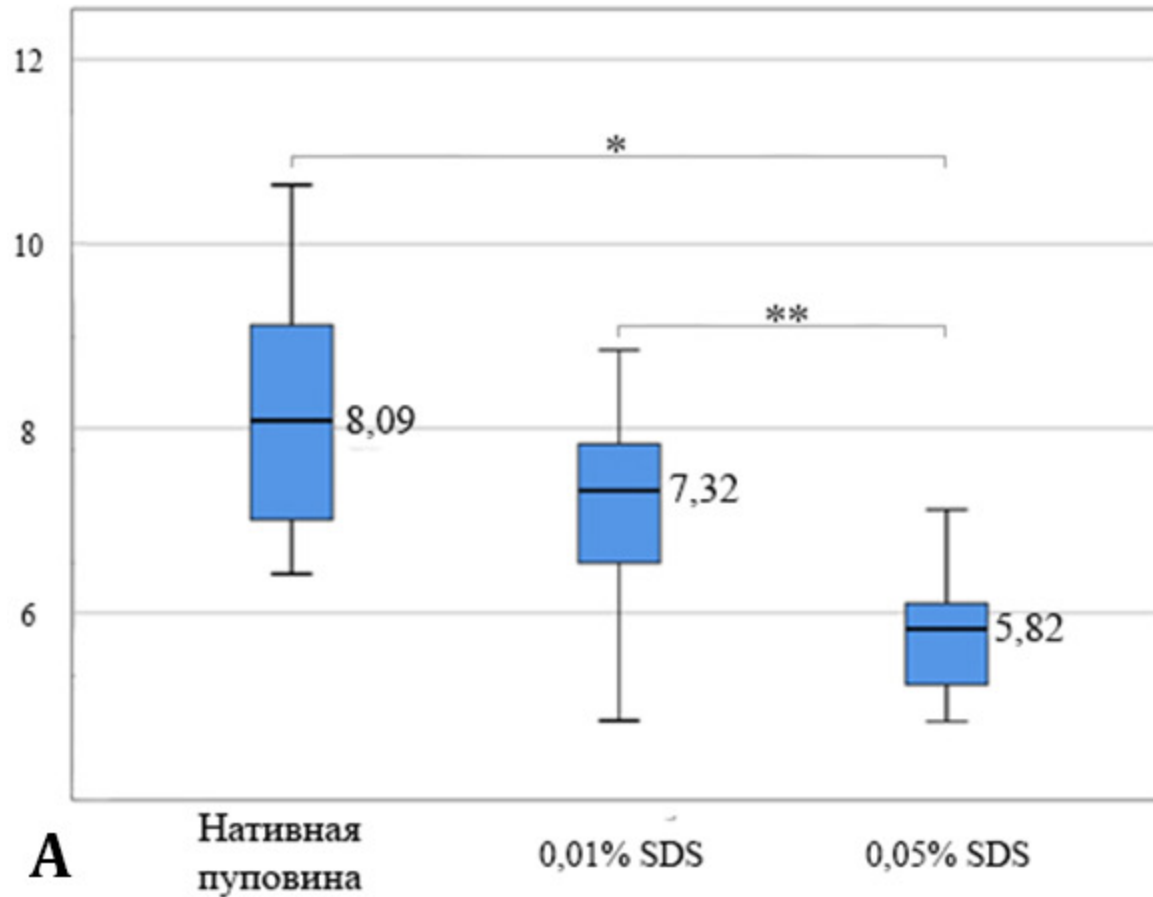
Параметр	COL I*	COL III**
Фактор конверсии гидроксипролин/коллаген	0.135	0.180
Содержание общего коллагена, %	63.7±3.4	44.3±5.1

* Capella-Monsonis H., Coentro J.Q., Graceffa V., Wu Z.N., Zeugolis D.I. *Nat. Protoc.* **2018**;13: 507–529. doi: 10.1038/nprot.2017.117

** Chung E. and Miller E.J. *Science.* **1974**;183:1200–1201. doi: 10.1126/science.183.4130.1200

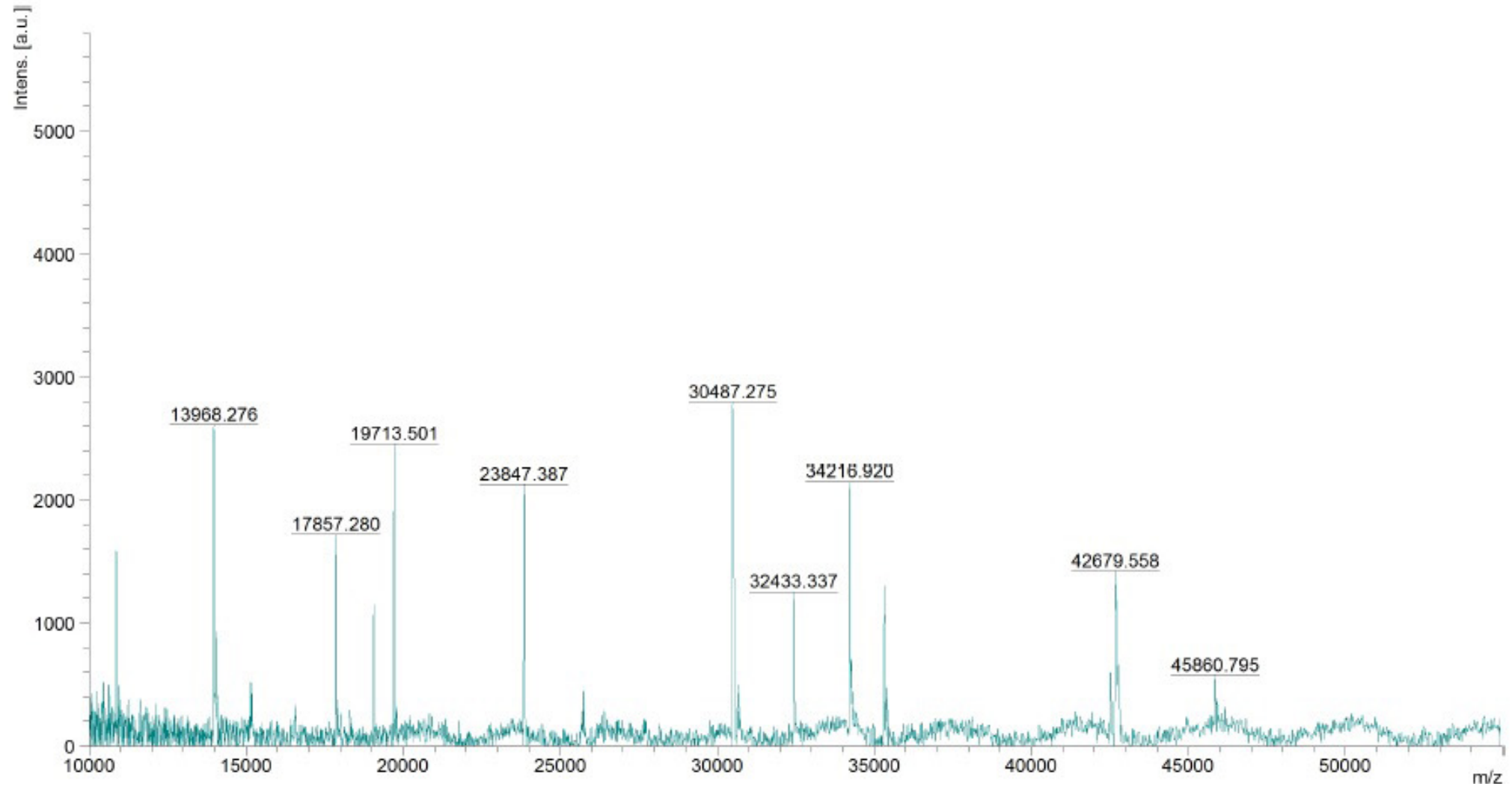


Количественное определение гликозаминогликанов в продукте



Содержание сульфатированных (А) и несulfатированных (В) гликозаминогликанов, мкг/мг сухого веса

Масс-спектрометрия MALDI-TOF



Исследование морфологической структуры продукта



Заключение

С помощью физических и физико-химических методов исследования подтвердили, что изготовленный из природного биоматериала гомологичного происхождения бесклеточный продукт является потенциально **неиммуногенным** и **нетоксичным**, представляет собой смесь **полипептидов** и **различных структурных и функциональных компонентов**, важных для процессов регенерации и заживления ран, а также обладает **гетерогенной пористостью**.

Благодарю за внимание!

