

**РАЗРАБОТКА РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ
КОМПОНЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА**

Р.Д. Мустафина¹, И.Р. Гильмутдинова², П.С. Еремин²

¹ *ФГАОУ Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет),
Москва, Россия*

² *Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии, Москва,
Россия*

ВВЕДЕНИЕ

Лечение ран консервативными методами не всегда может приводить к ожидаемым результатам. Доступные на российском рынке на данный момент раневые покрытия, или повязки, обладают множеством недостатков, например, прилипание повязок к ране, в результате чего происходит деформация возобновленного кожного покрова, а сам процесс перевязки становится болезненным для пациентов [1, 2]. На зарубежном рынке имеются аналоги, соответствующие требованиям регенеративной медицины, однако, они либо достаточно дорогие, либо труднодоступны для российских медицинских учреждений. При большой площади повреждения кожи широко используются биопластические материалы, основой которых являются продукты децеллюризированной дермы (свиной или донорской человека) [3, 4]. Такие продукты обладают следующими существенными недостатками: высокая стоимость и высокий риск развития нежелательных явлений. Исходя из вышесказанного, встает вопрос разработки новых современных раневых покрытий, способствующих более эффективному лечению и регенерации кожных покровов [5, 6].

Одним из перспективных направлений регенеративной медицины является получение биоматериалов на основе внутриклеточного матрикса для использования их в комбустиологии, травматологии и пластической хирургии [7]. При разработке подобных материалов наибольший интерес представляют комбинации из таких компонентов, как коллаген, эластин и гиалуроновая кислота, так как они являются одними из основных компонентов кожи и других соединительных тканей человека [8]. Коллаген составляет основу соединительной ткани организма, в том числе и дермы, и обеспечивает ее прочность и эластичность [9]. Эластин, как и коллаген, обеспечивает механическую прочность тканей, помогает органам восстанавливать исходные размеры после деформаций и обеспечивает контакты между клетками [10]. Гиалуроновая кислота также является одним из основных компонентов внеклеточного матрикса, отвечает за вязкость жидкостей в организме, эластичность и регенерацию тканей [11]. Идеальное покрытие должно отвечать ряду требований, предъявляемых современной медициной, таких как: создание оптимальной микросреды для регенерации кожи, удаление избытка раневого экссудата, предотвращение повторного заражения раны, стабильность, адгезивность и т. д. [5, 12]. При этом, покрытие должно обладать биосовместимостью и не должно вызывать аллергических и цитотоксических реакций [13, 14].

Цель работы создание нового биопластического материала на основе растворимой формы компонентов внеклеточного матрикса для использования его в качестве раневого покрытия, отвечающий всем требованиям современной медицины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В нашей работе использовали следующие компоненты: коллаген, эластин и гиалуроновая кислота, в пропорции, равной соотношению в дерме взрослого человека: коллаген 70–90 %, гиалуроновая кислота 5–26 %, эластин 1–25 %. Для стабилизации биопленки в жидкой среде материал подвергали фотохимической сшивке. Фотохимическую сшивку осуществляли с помощью источника

ультрафиолетового излучения ($\lambda < 230$ нм, расстояние от источника излучения до биоматериала 30 см). В процессе разработки материала подбирали: технологию получения гидрогеля, время воздействия на гидрогель ультрафиолетовым излучением для формирования фотохимической сшивки будущего биоматериала.

Сухие вещества смешивали в пропорции: коллаген – 70 %, гиалуроновая кислота – 9 %, эластин – 21 %. Добавляли дистиллированную воду и, с помощью лопастной мешалки с подогревом (37°C), мешали на средней/ максимальной скорости 5 – 10 минут. Жидкость разливали по железным и гидрофобным поддонам. Оставляли в ламинарном шкафу под ультрафиолетовым излучением на 6–17 часов с дальнейшим выдерживанием при комнатной температуре в течение 7–18 часов.

Для оценки физических свойств, материал разрезали на образцы одинаковых размеров, помещали в чашки Петри, заливали 0,9 % раствором NaCl и визуализировали под микроскопом. Далее материалы переносили в CO_2 инкубатор (37°C , 5 % CO_2) и наблюдали в течение 5-ти суток.

Для оценки цитотоксичности и биосовместимости материала на исследуемые образцы сажали клетки исходя из концентрации 15×10^3 кл/см², выдерживали 30 минут, заливали ростовой средой (DMEM L/g, 10 % FBS). Помещали в CO_2 инкубатор (37°C , 5 % CO_2). Визуализировали с помощью флуоресцентного микроскопа на 5-ые сутки культивирования. Клетки окрашивали с помощью ДНК-красителя Хехст.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Образец биоматериала, полученного путем смешивания смеси при средней скорости и при 17 часах фотохимической сшивки, характеризовался ломкостью, хрупкостью, гладкостью (Рис. 1). Цвет насыщенный карамельный. Пор не наблюдалось. Сильно прилипал к железным поддонам. Его хрупкость объясняется тем, что образец сильно пересох под источником ультрафиолетового излучения, а отсутствие пор недостаточной скоростью смешивания. Образец материала оставался стабильным при комнатной температуре, но при 37°C деградировал в течение часа.

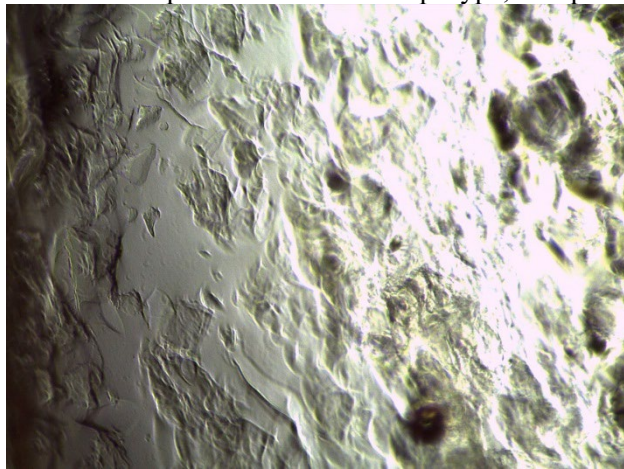


Рис. 1. Биоматериал «А». фотохимическая сшивка 17 часов. Световая микроскопия $\times 50$

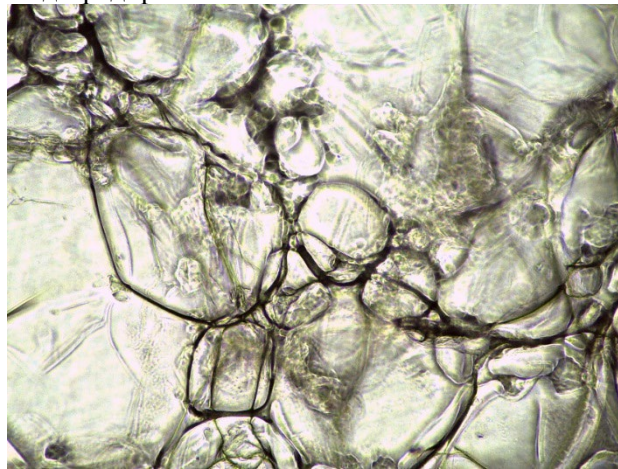


Рис. 2. Биоматериал «Б». фотохимическая сшивка 6 часов. Световая микроскопия $\times 50$

Опытным путем были подобраны оптимальные условия для получения биоматериала. Было решено проводить фотохимическую сшивку в течение 6-ти часов, а также смешивать вещества на максимальной скорости, для образования пузырьков воздуха, которые при сшивке образовывали пористую структуру материала. К тому же были использованы поддоны с гидрофобной поверхностью во избежание прилипания материала ко дну. После 6-ти часовой фотохимической сшивки материал оставляли подсыхать в ламинарном шкафу в течение 18 часов. Полученный материал имел светло-желтый цвет, высокую пористость, эластичность и не ломался при сгибании (Рис. 2). Хорошо отходил от гидрофобных поверхностей. По истечении 5-ти суток находящийся в CO_2 инкубаторе биоматериал деградировал на 10–15 %. При оценке цитотоксичности и биосовместимости материала наблюдался высокий рост клеточных культур как на чашках Петри, так и на самом биоматериале.

ВЫВОДЫ

Был разработан новый биопластический материал на основе растворимой формы внеклеточного матрикса, а именно коллагена, эластина и гиалуроновой кислоты. Материал пластичен, нецитотоксичен и биосовместим, стабилен в течение нескольких суток при 37° С. Высокая пористость может способствовать высокому газообмену между кожей и внешней средой, создавая при этом оптимальное микроокружение для клеток, которые способствуют росту трехмерной структурированной ткани. Таким образом, полученный биоматериал отвечает всем требованиям, предъявляемым к современным тканеинженерным конструкциям, что создает предпосылку к его использованию в таких областях медицины, как комбустиология, пластическая хирургия и травматология.

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда «УМНИК–18 (в)» (договор № 14612ГУ/2019 от 23.07.2019)

ЛИТЕРАТУРА

1. Современный комплексный подход к лечению больных, пострадавших от ожогов / А.А. Алексеев [и др.] // Сборник научных трудов III съезда комбустиологов России. 15–18 ноября 2010 г. – М., 2010. – С. 150–151.
2. Алексеев А.А., Бобровников А.Э. Местное консервативное лечение ожогов: рекомендации для врачей. М.: Мед. информ. агентство; 2015. 112
3. Christopher A. Carruthers, Christopher L. Dearth et al. // Histologic Characterization of Acellular Dermal Matrices in a Porcine Model of Tissue Expander Breast Reconstruction. // Tissue Eng Part A. 2015. 21(1–2): 35–44;
4. Алексеев А.А. Малютина Н.Б., Тюрников Ю.И. Перспективные возможности эффективного лечения пограничных и мозаичных ожогов II–III степени // Комбустиология, 2016. № 56–57. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://combustiology.ru/number_journal/nomer-56-57. 2016 / (дата обращения: 23.12.2016).
5. I.S. Vinnik, N.M. Markelova, N.S. Solov'eva, E.I. Shishatskaia, M.N. Kuznetsov, A.P. Zuev // The Current Dressings for Wound Care in the Treatment of Purulent Wounds // Novosti Khirurgii. 2015 Sep-Oct; Vol 23 (5): 552–558;
6. Современные раневые покрытия в местном лечении ран различного генеза / Д.В. Шаблин [и др.] // Фундам. исследования. – 2013. – № 12–2. – С. 361–65;
7. Булай П.И. Биологические комплексы для заживления ожогов // Современные подходы к разработке эффективных перевязочных средств: Матер. междунар. конф. – М., 1995. – С. 116–117.
8. Лившиц В.С. Полимерные покрытия на раны и ожоги (обзор) // Хим-фарм. журнал. – 1988. – Т. 22, № 7. – С. 790–798.
9. Смирнов С.В. Биологическая повязка на основе коллагена типа I с тромбоцитарным фактором роста в лечении ожоговых ран IIIa степени // Здоровье столицы. – 2006. – М.: ГЕОС, 2006. – 197 с 10. Хилькин А.М. Коллаген и его применение в медицине. – М.: Медицина, 1976. – С. 183–185.
11. Р.Т. Нигматуллин, Р.З. Кутушев // Применение эластинового биоматериала в восстановительной хирургии стенок глаза // Практическая медицина 6(98). Ноябрь 2016; с 119–121.
12. Still J.M., Law E.J. Decreasing length of hospital stay by early excision and grafting of burns // Belcher South Med. J. – 1996. Vol. 89. – P. 578–582;
13. Гофельд, А.М. К вопросу об оптимальных условиях для "выхаживания" тканей в ожоговой ране / А.М. Гофельд, М.А. Гофельд, Т.Н. Бобродина // Тезисы докладов международного хирургического конгресса "Раны, ожоги, повязки". – Тель-Авив. – 1998. – С. 62. 5. К 14. Севастьянов В.И. Кирпичников М.П. БИОСОВМЕСТИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ // М., 2011, С. 47–54;