

Научная статья

Original article

УДК 57.01



**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СКАФФОЛДА ДЛЯ
ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

**PROSPECTS FOR THE USE OF RAW MATERIALS OF ANIMAL
ORIGIN FOR THE DEVELOPMENT OF A SCAFOLD FOR TISSUE
ENGINEERING**

Кручинина Анастасия Дмитриевна, доцент кафедры «Общая биология и биохимия», Пензенский государственный университет, г. Пенза

Файзулина Айсылу Наилевна, магистрант, Пензенский государственный университет, г. Пенза

Глумскова Юлия Александровна, инженер-исследователь ООО «Кардиоплант», г. Пенза

Fayzulina Aisylu Nailevna, Graduate Student, Penza State University, Penza
e-mail: fayzulina.2015@mail.ru

Kruchinina Anastasiia Dmitrievna, Associate Professor of the Department of General Biology and Biochemistry, Penza State University, Penza
e-mail: a.d.kruchinina@mail.ru

Glumskova Julia Aleksandrovna, research engineer, Ltd. Cardioplant, Penza
e-mail: y_glumskova@mail.ru

Аннотация

Целью настоящего исследования является оценка возможности использования различного сырья животного происхождения для разработки и биотехнологического производства скаффолда для тканевой инженерии. Забор биологического материала производили от крупного рогатого скота. Объектами исследования были выбраны следующие соединительнотканые структуры: перикард, брюшина, подслизистая тонкой кишки, подслизистая мочевого пузыря, глиссонова капсула печени. Анализ биологического материала проводили по следующим параметрам: удобство забора, возможные объемы поставок, трудоемкость механической чистки, толщина, возможность наслаивания, упруго-прочностные характеристики. Согласно полученным результатам наиболее предпочтительным сырьем для биотехнологического производства скаффолда для тканевой инженерии является подслизистая тонкой кишки.

Annotation

The purpose of this study is to evaluate the possibility of using various raw materials of animal origin for the development and biotechnological production of a scaffold for tissue engineering. Biological material was taken from cattle. The objects of study were the following connective tissue structures: pericardium, peritoneum, submucosa of the small intestine, submucosa of the urinary bladder, Glisson's capsule of the liver. The analysis of biological material was carried out according to the following parameters: ease of sampling, possible volumes of supplies, laboriousness of mechanical cleaning, thickness, possibility of layering, elastic-strength characteristics. According to the results obtained, the most preferred raw materials for the biotechnological production of a scaffold for tissue engineering is submucosa of the small intestine.

Ключевые слова: регенеративная медицина, скаффолд, ксеноматериал, тканеинженерный конструкт

Keywords: regenerative medicine, scaffold, xenomaterial, tissue engineering construct

Тканевая инженерия является одним из наиболее развивающихся направлений регенеративной медицины, открывающих широкие перспективы для создания эффективных биомедицинских технологий, с помощью которых становится возможным восстановление поврежденных тканей и органов. Тканеинженерные конструкции (ТИК) состоят из клеток, способных к формированию компонентов матрикса; биodeградируемого носителя (скаффолда); биоактивных молекул [1]. Сырьем для получения биodeградируемых скаффолдов могут служить ткани животного происхождения. К преимуществам ксеноматериалов относятся: возможность забора в крупных объемах в сравнении с алло- и аутогенным материалом, отсутствие риска передачи вирусных заболеваний в отличие от аллогенных биоматериалов, биологическую активность и структуру природной ткани в сравнении с синтетическими аналогами.

Целью настоящего исследования является оценка возможности использования различного сырья животного происхождения для разработки и биотехнологического производства скаффолда для тканевой инженерии.

При выборе сырья для производства скаффолда предпочтение отдается структурам из соединительной ткани (рис.1).



Рисунок 1. Схема строения соединительной ткани

Данный подход обусловлен возможностью получения бесклеточного материала, содержащего все основные компоненты внеклеточного матрикса. Внеклеточный матрикс представляет систему белков и полисахаридов, выполняет каркасную функцию и осуществляет регуляцию многих важных процессов, включая участие в передаче сигнала, регуляцию деления и дифференцировки клеток [2].

Децеллюляризация представляет собой эффективный способ снижения иммуногенности имплантируемого материала. Важными критериями, предъявляемыми к агенту для децеллюляризации, являются способность эффективно удалять все клетки и клеточные компоненты из ткани, а также не вызывать изменений гистологической структуры ткани и химического состава внеклеточного матрикса [3]. К основным способам децеллюляризации относят ферментирование с использованием отдельных ферментов или их комбинаций: трипсин неочищенный, коллагеназа, эластаза, проназа, диспаза, ДНКаза, гиалуронидаза и т.д., обработку растворами детергентов: додецилсульфат натрия, дезоксихолат натрия, тритон X-100, 3-[(3-

холамидопропил)-диметиламмоний]-1-пропансульфон и т.д. [4]. Результатом подобной обработки является бесклеточный материал, при этом эффективность удаления клеток и степень повреждения белков матрикса будет напрямую связаны с протоколом обработки [5].

В рамках настоящего исследования забор биологического материала производили от крупного рогатого скота, транспортировку осуществляли в 20% солевом растворе с целью избежания порчи образцов. Объектами исследования были выбраны следующие соединительнотканые структуры: перикард, брюшина, подслизистая тонкой кишки (ПТК), подслизистая мочевого пузыря (ПМП), глиссонова капсула печени (ГКП).

Оценку биологического материала проводили по следующим критериям: удобство забора, возможные объемы поставок, трудоемкость механической чистки, толщина, упруго-прочностные характеристики, возможность наслаивания (таблица 1, таблица 2).

Таблица 1. Сравнительная характеристика исследуемых ксеноматериалов

Критерий	Перикард	Брюшина	ПТК	ПМП	ГКП
Удобство забора	+	+	-	-	-
Доступность сырья	Средняя	Средняя	Средняя	Низкая	Низкая
Трудоемкость чистки	Средняя	Средняя	Высокая	Высокая	Высокая
Толщина, мм	0,35-0,8	0,3-0,45	0,07-0,22	0,07-0,2	0,05-0,1
Возможность наслаивания с последующей лиофилизацией	нет	нет	есть	есть	есть

С точки зрения удобства забора и трудоемкости чистки наиболее доступными и легко отделяемыми структурами являются перикард и брюшина, подслизистые тонкой кишки, мочевого пузыря и глиссонова капсула требуют дополнительного очищения от прилежащих слоев. Вместе с тем подслизистая тонкой кишки используется на пищевых производствах для изготовления натуральных оболочек колбасных изделий и первично может быть механически очищена в условиях цеха, что существенно облегчает дальнейшую обработку материала. Толщина соединительнотканых структур варьируется в диапазоне от 0,05 до 0,8 мм в зависимости от типа. Перикард, брюшина и глиссонова капсула печени представлены плотной волокнистой тканью, подслизистые тонкой кишки и мочевого пузыря – рыхлой волокнистой соединительной тканью. Структуры из плотной ткани хуже поддаются наслаиванию, кроме того, толщина полученного конструкта не позволяет провести полную лиофилизацию материала.

Изучение упруго-прочностных характеристик ксеноматериалов проводилось на испытательной установке INSTRON-5944 BIO PULS. Измерения проводили на 20 образцах каждой группы, для этого вырезали полоски размером 5x30 мм, толщину определяли с помощью измерительной головки Mitutoyo Absolute с точностью до 0,01 мм не менее чем в 5 точках.

Таблица 2. Упруго-прочностные характеристики ксеноматериалов

	Модуль упругости, МПа	Напряжение при растяжении, МПа	Максимальная нагрузка, Н
Перикард	85,7±20,3	11,5±2,3	25,4±5,5
Брюшина	39,6±4,7	6,6±2,1	18,2±2,5
ПТК	41,2±2,4	4,5±1,2	9,4±1,2
ПМП	37,1±5,6	4,7±1,8	10,2±1,6
ГКП	24,4±3,9	1,5±0,3	1,3±0,3

Модуль упругости характеризует сопротивление материала растяжению/сжатию при упругой деформации. Значения модуля упругости перикарда в 2 раза выше по сравнению с брюшиной, ПТК, ПМП и в 4 раза по сравнению с ГКП. Высокое значение модуля Юнга означает, что перикард является менее эластичным и более жестким по сравнению с другими материалами. Жесткость перикарда может быть связана с наибольшей толщиной, плотным расположением волокон в ткани и способом транспортировки биологического материала в концентрированных солевых растворах, оказывающих стабилизирующий эффект на коллаген. Максимальное напряжение, приводящее к разрушению, называется пределом прочности. Под максимальной нагрузкой понимают максимальное усилие при растяжении, полученное во время испытания. Установлено, что наиболее прочным материалом является перикард, наименее прочным глиссонова капсула печени.

Согласно результатам исследования было установлено, что наиболее предпочтительным сырьем для биотехнологического производства скаффолда для тканевой инженерии является подслизистая тонкой кишки. Данный материал имеет толщину 0,07-0,22 мм, доступен, может быть механически очищен в условиях цеха и использован для создания многослойных конструктов путем наслаивания. Подслизистая тонкой кишки представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, имеет пористую структура, что обеспечивает нормальную диффузию кислорода для поддержания жизнедеятельности клеток.

Литература

1. Севастьянов В.И. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2014. Т. 16. № 3. С. 93-108.

2. Новоселецкая Е.С., Григорьева О.А., Ефименко А.Ю., Калинина Н.И. Внеклеточный матрикс в регуляции дифференцировки стволовых клеток // Биохимия. 2019. Т. 84. № 3. С. 343-353.
3. Theocharis A.D., Skandalis S.S., Gialeli C. et al. Extracellular matrix structure// Adv Drug Deliv Rev. 2016. V. 97. P. 4-27.
4. Старцева О.И., Синельников М.Е., Бабаева Ю.В., Трущенко В.В. Децеллюляризация органов и тканей// Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова. 2019. №8. С. 59-62.
5. Хенч Л. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей: монография / Хенч Л., Джоунс Д.. Москва: Техносфера, 2007. 304 с.

Literature

1. Sevastianov V.I. Technologies of tissue engineering and regenerative medicine // Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs. 2014.16(3). P. 93-108.
2. Novoseletskaia E.S., Grigorieva O.A., Efimenko A.Y., Kalinina N.I. Extracellular matrix in the regulation of stem cell differentiation // Biochemistry (Moscow). 2019. Т. 84. № 3. P. 232-240.
3. Theocharis A.D., Skandalis S.S., Gialeli C. et al. Extracellular matrix structure// Adv Drug Deliv Rev. 2016. V. 97. P. 4-27.
4. Startseva O.I., Sinelnikov M.E., Babayeva Yu.V., Trushenkova V.V. Decellularization of organs and tissues // Pirogov Russian Journal of Surgery. 2019. №8. P. 59-62.
5. Hench L. Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering / L. Hench, J. Jones. Moscow, 2007. 304 p.

©Кручинина А. Д., Файзулина А. Н., Глумскова Ю. А., 2022 Научный сетевой журнал «Интеграл» №5/2022.

Для цитирования: Кручинина А. Д., Файзулина А. Н., Глумскова Ю. А. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СКАФФОЛДА ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ // Научный сетевой журнал «Интеграл» №5/2022.