

## **БИОМАТЕРИАЛ «ГИАМАТРИКС» – НОВЫЙ БИОПОЛИМЕР НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

**Разработан оригинальный биопластический материал на основе полимера гиалуроновой кислоты с заданными биоинженерными свойствами. Изучено влияние разработанного биоматериала на регенерацию дефекта кожного покрова в условиях экспериментальной раны.**

**Ключевые слова:** биопластический материал, гиалуроновая кислота, регенерация, биорезорбция.

По ежегодным данным Минздравсоцразвития РФ (Госдоклад 2005, 2006 г.), количество пострадавших от ожогов составляет в среднем около 700 тыс. человек ежегодно. В настоящее время в России имеется 82 ожоговых центра, однако потребность в них во много раз больше, поскольку в этих центрах получают лечение лишь 23% пострадавших от ожогов, а 77% госпитализируются в хирургические и травматологические отделения. Лечение ожоговых больных весьма дорогостоящее и сопровождается сложной медицинской реабилитацией. В США, например, на лечение больного, у которого обожжено 40% поверхности кожи тела, расходуется 180–200 тыс. долл., в Израиле – 90–100 тыс. долл. Каждый год миллионы людей получают сильные ожоги. Применение искусственных заменителей кожи позволяет быстрее восстановить поврежденные кожные покровы.

В последнее время на основе полученных новых данных изучения механизмов регенерации тканей и органов с целью восстановления утраченных функций кожных покровов интенсивно развивается тканевая инженерия и регенеративная медицина. Целью данного направления является создание органов и тканей *de novo*, которая достигается благодаря трансплантации клеток на матрицах-носителях.

Матрица-носитель, или матрикс, – это синтетический или биологический комплекс, обеспечивающий механическую прочность конструкции, ее пространственную 3-D ориентацию. Основными критериями биологически совместимой матрицы для создания тканеинженерной конструкции должны быть: отсутствие цитотоксичности, поддержание адгезии, фиксации, пролиферации и дифференцировки помещенных на ее поверхность клеток, отсутствие воспалительной реакции на материал и иммунного от-

вета, достаточная механическая прочность в соответствии с назначением, биорезорбируемость обычными метаболическими путями [1, 3]. Из современных мировых разработок пластических материалов с использованием клеточных технологий необходимо отметить следующие [4, 5, 6, 7]:

1. Пластический материал Integra компании Integra LifeSciences Holdings Corporation. Integra состоит из двух слоев: внутренний, прилегающий к ране, построен из коллагенового матрикса и покрыт слоем хондроитин-6-сульфата. Можно сказать, внутренний слой является примитивным подобием базальной мембраны, которая также состоит из коллагеновых волокон, покрытых протеогликанами. Внешняя сторона Integra изготовлена из синтетического полисилоксанового полимера.

2. OrCel – matrix, производимая Ortec International Inc. В данном пластическом материале коллагеновые волокна ориентированы в губчатом порядке, в их ячейках располагаются клеточные элементы. Такая архитектура в виде «губки» обеспечивает благоприятную окружающую среду для перемещения трансплантированных и собственных клеток реципиента.

3. Apligraf (Graftskin) – это пластический биоматериал, созданный компанией Organogenesis (США), по структуре аналогичен OrCel – matrix, но в отличие от него дополнительно содержит матричные белки и цитокины.

Самой успешной разработкой в мире среди различных пластических материалов является полимер на основе химически модифицированной гиалуроновой кислоты – HYAFF. HYAFF синтезирован в университете Padova (Италия) благодаря поддержке европейского консорциума с участием ученых из Италии, Бельгии, Германии, Великобритании и произ-

водится медико-биотехнологическим концерном Tissue Tech.

Разработанный пластический материал является уникальным носителем трансплантируемых клеточных элементов, так как благодаря содержанию гиалуроновой кислоты и оптимальному составу по другим трофическим веществам клетки в его структуре не только сохраняют жизнеспособность, но и способны проявлять митотическую активность. На раневой поверхности HYAFF обеспечивает естественный дренаж и создает оптимальные условия для миграции эпителиальных клеток [2].

Однако вышеуказанные материалы мало доступны: требуют особых условий применения и отличаются высокой ценой даже для европейского уровня платежеспособности. Кроме того, в основе материала HYAFF имеется химически модифицированная гиалуроновая кислота, что снижает клиническую эффективность.

Поэтому исследования по разработке новых биопластических материалов с усиленной регенерацией на основе нативной гиалуроновой кислоты актуальны в современной биоинженерии.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния разработанного биоматериала на регенерацию дефекта кожного покрова в условиях экспериментальной раны.

Для достижения поставленной цели ставились следующие задачи:

1. Установить, подвергается ли трансплант биодegradации в условиях экспериментального раневого процесса (особенно в первую фазу) при закрытии дефекта кожных покровов.
2. Изучить, является ли биоматериал структурным каркасом при регенерации дефекта кожных покровов в эксперименте.
3. Оценить влияние биоматериала на скорость регенерации экспериментальной раны.

#### **Материал и методы морфологического исследования**

Морфологическое исследование выполнено на 30 белых крысах линии Wistar обоего пола, весом от 0,2 до 0,25 кг. В процессе эксперимента на крысах производилась экспериментальная ожоговая рана на поясничной области размером 1,5x1,0 см в асептических условиях в операционной вивария Оренбургского государственного университета.

Для решения поставленных задач было сформировано две группы животных (крысы линии Wistar) – опытная (n=15), контрольная (n=15). В обеих группах на поясничной области подопытных формировалась экспериментальная рана (Методические указания Сан.Пин 1.2.97) (рис. 1), в опытной группе на ее поверхность апплицировался биоматериал (рис. 2), в контрольной группе рана оставалась неприкрытой.

Животных наблюдали в сроки от 1 суток до 23 суток. За время наблюдения проводилась прижизненная биопсия краев раны.

#### **Результаты и их обсуждение**

В опытной группе в первые сутки после укладывания биоматериала на только что сформированную экспериментальную рану наблюдалась его плотная адгезия к подлежащим тканям, после чего прекращалась кровоточивость раны. Биоматериал удерживался в ране в условиях высокой подвижности животного и при отсутствии фиксирующей повязки. К концу первых суток биоматериал подвергался незначительной краевой биорезорбции, однако сохранялся в ране.



Рисунок 1. Экспериментальная ожоговая рана крысы. Первый день



Рисунок 2. Аппликация биоматериала на экспериментальную ожоговую рану крысы

На третьи сутки отмечено резкое уменьшение размеров экспериментальной раны, эпителизация раны происходила центrostремительно, в центре сохранялась грануляционная ткань с элементами биоматериала. Биоматериал на данный период практически был метаболизирован (рис. 3).

На восьмые сутки наблюдалось полное заживление первичным натяжением экспериментальной раны у всех животных опытной группы, отмечена полная эпителизация без развития рубцовой ткани (рис. 4).

В контрольной группе в первые сутки экспериментальная рана велась открытым способом, отмечалась ее кровоточивость, формирование выраженной отечности. К концу первых суток наблюдался фибриновый ступок.

На третьи сутки размеры раны уменьшились, сформировался выраженный струп. Однако по сравнению с опытной группой рана была больше в диаметре на 0,5–0,7 см (рис. 5).

Восьмые сутки: отмечена эпителизация краев раны к центру (площадь заживления составила в среднем 70–75%), в центре раны находилась грануляционная ткань с признаками воспалительных изменений (рис. 6).

Окончательное заживление раны происходило лишь на 15-16-е сутки наблюдения за животными контрольной группы, тогда как в опытной группе этот срок составил 8–9 суток с момента начала эксперимента.

Анализируя полученные экспериментальные данные, можно заключить, что структурное построение разработанного биоматериала позволяет ему, претерпевая постепенный лизис, пролонгированно находиться в условиях термической раны (до 3-х суток) и тем самым, высвобождая биологически активные вещества, стимулировать регенерацию подлежащих тканей. Биоматериал создает оптимальную внеклеточную микросреду для миграции и усиления митотической активности клеток. Формирование регенерата происходило под покровом пластического материала, причем между трансплантатом и подлежащими тканями не было сращений и плотной связи, а существовало соединение диффузионного обмена.

### **Заключение**

Данные экспериментального исследования позволяют сделать следующие выводы:



Рисунок 3. Экспериментальная ожоговая рана крысы. Опытная группа, третьи сутки



Рисунок 4. Экспериментальная ожоговая рана крысы. Опытная группа, восьмые сутки

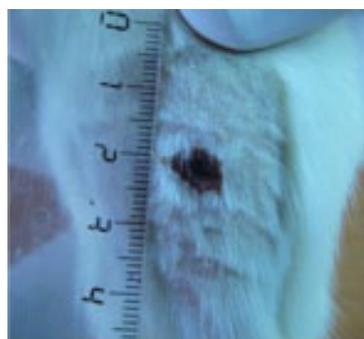


Рисунок 5. Экспериментальная ожоговая рана крысы. Контрольная группа, третьи сутки



Рисунок 6. Экспериментальная ожоговая рана крысы. Контрольная группа, восьмые сутки

1. В условиях экспериментальной раны биоматериал метаболизировался в течение 56–72 часов.

2. Эпителизация раны происходила центростремительно по мере замещения биопластического материала.

3. Биоматериал оказывал стимулирующее влияние на регенерацию кожного дефекта, полная эпителизация раны в опытной группе происходила по срокам в два раза быстрее.

Эффективность применения биоматериала в экспериментальных условиях составила 100%.

Результаты исследования являются достоверными, так как получены с помощью объективных методов исследования, позволяющих визуализировать итоги работ.

В целом получены обнадеживающие основания для перспективного изучения биоматериала и его эффективного применения в практическом здравоохранении.

**Список использованной литературы:**

1. Agrawal CM, et al. Biodegradable PLA/PGA polymers for tissue engineering in orthopaedics // Material Science Forum. - 1997. - P. 115-128.
2. Brun P, Cortivo R., Radice M., Abatangelo G. Hyaluronan-based biomaterials in tissue engineering. New Frontiers in Medical Sciences: Redefining Hyaluronan // Symposium Proceedings, Padua, Italy. - June 1999. - P. 269.
3. Burg KJL, et al. Biomaterials development for bone tissue engineering // Biomaterials. - 2000. №21. - P. 2347-2359.
4. Kuzuya M., Satake S., Miura H., et al. Inhibition of endothelial cell differentiation on glycosylated reconstituted basement membrane complex // J. Experimental Cell Research. - 2006. - №226. - P. 336-345.
5. Livesey S., Atkinson Y., Call T. et al. An acellular dermal transplant processed from human allograft skin retains normal extracellular matrix components and ultrastructural characteristics // 19<sup>th</sup> Annual Meeting of American Association of Tissue Banks, San Francisco. - CA. - August 20-24. - 2004.
6. Tajima K. Regeneration through nerve allografts in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) // J. Bone Joint Surgery. - 1991. P. 172.
7. Wainwright D., Madden M., Luterman A. Clinical evaluation of an acellular allograft dermal matrix in full-thickness burns // J. Burn Care Rehabil 1996. - №17. - P. 124-136.

**Сведения об авторах:**

Рахматуллин Рамиль Рафаилович, заведующий научно-производственной лабораторией клеточных технологий кафедры профилактической медицины Оренбургского государственного университета, кандидат медицинских наук. 460018, г. Оренбург, пр-т Победы 13, корпус 16, тел. (3532)372484, e-mail: ram2525@mail.ru

Барышева Елена Сергеевна, заведующая кафедрой профилактической медицины Оренбургского государственного университета, доктор медицинских наук 460018 г. Оренбург, пр-т Победы 13, корпус 16, тел. (3532)372484, e-mail: baryshevae@mail.ru  
Рахматуллина Лилия Рафаильевна, аспирантка кафедры профилактической медицины Оренбургского государственного университета. 460018 г. Оренбург, пр-т Победы 13, корпус 16, тел. (3532)372484, e-mail: lilijarim@mail.ru

Митрофанова Ирина Робертовна, лаборант кафедры химии Оренбургского государственного университета. 460018 г. Оренбург, пр-т Победы 13, корпус 16, тел. (3532)372484, e-mail: mitrina.19@mail.ru

Rahmatullin R.R., Barysheva E.S., Rahmatullina L.R., Mitrofanova I.R.

Biomaterial «giamatrix» – new biopolymer based on hyaluronic acid (experimental research)

Original bioplastic material based on hyaluronic acid with set bioengineered features has been developed. The authors study influence of the developed biomaterial on regeneration of skin integument under conditions of experimental wound.

Key words: bioplastic material, hyaluronic acid, regeneration, bioresorption.

**Bibliography:**

1. Agrawal CM, et al. Biodegradable PLA/PGA polymers for tissue engineering in orthopaedics//Material Science Forum.- 1997.-P.115-128;
2. Brun P, Cortivo R., Radice M., Abatangelo G.: Hyaluronan-based biomaterials in tissue engineering. New Frontiers in Medical Sciences: Redefining Hyaluronan//Symposium Proceedings, Padua, Italy.-June 1999.-P. 269.
3. Burg KJL, et al. Biomaterials development for bone tissue engineering //Biomaterials.-2000.№21.-P. 2347-2359.
4. Kuzuya M., Satake S., Miura H., et al. Inhibition of endothelial cell differentiation on glycosylated reconstituted basement membrane complex//J Experimental Cell Research.- 2006.-№226.-P. 336-345.
5. Livesey S., Atkinson Y. Call T. et al. An acellular dermal transplant processed from human allograft skin retains normal extracellular matrix components and ultrastructural characteristics//19<sup>th</sup> Annual Meeting of American Association of Tissue Banks, San Francisco. - CA. - August 20-24. -2004.
6. Tajima K. Regeneration through nerve allografts in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*)//J. Bone Joint Surgery.- 1991.-P.172.
7. Wainwright D., Madden M., Luterman A.. Clinical evaluation of an acellular allograft dermal matrix in full-thickness burns//J Burn Care Rehabil 1996.-№17.-P.124-136.