

ВОССТАНОВЛЕНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЕННОЙ ИНДУКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРОЛИКАХ

Х. Р. Курбонов¹, Р. В. Деев², Ф. С. Орипов¹, Е. В. Пресняков²

¹Самаркандский государственный медицинский университет, Самарканд, Узбекистан

²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Ключевые слова: VEGF, ген-активированный гидрогель, альгинат натрия, октакальций фосфат, репаративный остеогистогенез.

Таянч сўзлар: VEGF, ген-активирланган гидрогель, натрий альгинат, октакальций фосфат, репаратив остеогистогенез.

Key words: VEGF, gene-activated hydrogel, sodium alginate, octacalcium phosphate, reparative osteohistogenesis.

В ходе эксперимента гистологически изучены влияние комплексов гидрогеля альгината натрия, микрогранул ОКФ-октакальций фосфат (контрольная группа) и альгината натрия, ОКФ, VEGF-Vascular endothelial growth factor (фактор роста эндотелия сосудов) на регенерацию кости в дефекте теменной кости. Установлено, что комплекс, содержащий VEGF, положительно влияет на регенерацию кости по сравнению с контрольной группой, открывает широкие возможности в направлении регенерации плоских костей в будущем.

ТАЖРИБАДА ГЕН ИНДУКЦИЯСИ ТАЪСИРИДА КУЁНЛАРДА СУЯК ТЎҚИМАСИНИНГ РЕГЕНЕРАЦИЯСИ

Х. Р. Курбонов¹, Р. В. Деев², Ф. С. Орипов¹, Е. В. Пресняков²

¹Самарканд давлат тиббиёт университети, Самарканд, Ўзбекистон Республикаси

²И.И. Мечников номидаги Шимоли-Ғарбий давлат тиббиёт университети,
Санкт-Петербург, Россия Федерацияси

Тажириба давонида натрий альгинат гидрогель комплекслари, ОКФ-октакальций фосфат микрогранулалари (назорат гуруҳи) ва натрий альгинат, ОКФ, VEGF (Vascular endothelial growth factor, кон томир эндотелийси ўсиш омил) нинг тепа суюк нуксониди суюк регенерациясига таъсири гистологик жиҳатдан ўрганилди. VEGFни ўз ичига олган комплекс, назорат гуруҳига нисбатан суюкларнинг регенерациясига ижобий таъсир кўрсатиши, келажакда ясси суюкларнинг ремоделяцияси йўналишида кенг имкониятлар очиши аниқланди.

BONE TISSUE REGENERATION UNDER THE INFLUENCE OF GENE INDUCTION IN AN EXPERIMENT ON RABBITS

Kh. R. Kurbonov¹, R. V. Deev², F. S. Oripov¹, Ye. V. Presnyakov²

¹Samarkand State Medical University, Samarkand, Uzbekistan

²North-Western State Medical University named after N.N. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

During the experiment, the effect of sodium alginate hydrogel complexes, OCP-octacalcium phosphate microgranules (control group) and sodium alginate, OCP, VEGF (Vascular endothelial growth factor) on the defect located in the parietal bone was studied histologically. The fact that the VEGF-containing complex has a positive effect on bone regeneration compared to the control group gives up great possibilities in the direction of flat bone regeneration in the future.

Эффективные стратегии для восстановления интегритета костной ткани остаются существенными в практике травматологии, нейрохирургии и области регенеративной медицины в целом. Одним из перспективных направлений развития в данных областях является применение генетических конструкций, содержащих терапевтические гены VEGF, в гелевых носителях [2].

Использование данной технологии позволяет модифицировать продукцию отдельных факторов тканей, вовлеченных в процесс репаративного остеогенеза, на месте повреждения. Исследователи обращают внимание на активированные гидрогели, включающие терапевтические гены, в связи с их способностью оптимизировать процесс регенерации тканей и обеспечивать доставку биологически активных компонентов, таких как лекарственные препараты, клетки, факторы роста и генетические конструкции, в зону имплантации. Это позволяет улучшить эффективность лечения и стимулирует интерес исследователей. Активированные гидрогели представляют значимый потенциал в области медицинской науки, благодаря своей способности улучшать процессы регенерации и обеспечивать доставку биологически активных веществ в целевую зону. Это является одним из ключевых факторов, привлекающих внимание исследователей в данной области [1]. Для доставки терапевтических генов фактора роста эндотелия сосудов в лечебных целях

можно применять разнообразные гелевые носители. В исследовании был использован холестерилолигоаргинин в качестве переносчика комплексов генов VEGF на агарозный гель [7]. Гидрогелевые носители также разработаны в качестве средств доставки одного или нескольких факторов роста (GFs), обеспечивая контролируемую, устойчивую и локализованную доставку [10]. Кроме того, исследования были проведены с использованием биоразлагаемых носителей для доставки плазмидной ДНК VEGF с целью лечения ишемии конечностей [8]. Биологически чувствительные носители также были использованы для доставки антиангиогенетической shRNA в лечении опухолей [4]. Вышеупомянутые носители представляют собой лишь некоторые из гелевых носителей, применяемых в терапевтических целях для доставки гена VEGF.

Доставка генов в клетки-мишени осуществляется при помощи вирусных или невирусных векторов, а генные конструкции, содержащие терапевтические гены, проникают в клетки регенерирующих тканей благодаря применению специальных методов введения [6]. Проведено исследование смеси натриевого альгината и микрогранул с развитой структурой поверхности, применяемой в модели имплантации в области дефекта плоских костей черепа. В данном эксперименте была осуществлена оценка комбинации натриевого альгината и микрогранул с высокой поверхностной активностью, которая используется для моделирования ортотопической имплантации. Результаты данного исследования показывают, что применение данного комплекса не вызывает выраженного воспалительного ответа [3]. Было обнаружено, что в результате воздействия VEGF (фактор роста эндотелия сосудов, который выделяется клетками для активации процессов васкулогенеза и ангиогенеза, то есть образования новых сосудов в уже существующей сосудистой системе), наблюдается существенное увеличение пролиферации камбиальных клеток костной ткани. Кроме того, путем активации миграции клеток остеогенеза в направлении градиента концентрации данного ростового фактора [5, 9].

Цель исследования – изучение влияния генной индукции плазмидной ДНК с геном VEGF на процесс репаративного остеогистогенеза. Для репаративного процесса, из немаловажных факторов в костной ране, считается наличие кровеносных сосудов. Суть данной работы является местное увеличение концентрации VEGF в костном дефекте, который должен привести к повышению активности ангиогенеза.

Материал и методы исследования. Проведенное исследование осуществлялось на кроликах самцах. Каждому экспериментальному животному было создано два полнослойных дефекта на обеих теменных костях. Данные дефекты имели одинаковый диаметр, равный 10 мм. При проведении исследования восстановления дефектов левых теменных костей были использованы однородные матриксы-носители, не содержащие экстрахромосомную ДНК. В то же время, для восстановления дефектов правых теменных костей были применены остеопластические материалы, активируемые генами. С использованием стандартных методов анализа, включая окрашивание трихромом по Маллори и стандартное гистологическое исследование, результаты эксперимента были оценены спустя 90 дней.

Результаты исследования. 90 сутки после внесения материала в виде микрогранул ОКФ и альгинатного геля (1-группа) в центральной область дефекта целостность теменной кости не была восстановлена – центральная часть дефекта была заполнена микрогранулами ОКФ, фуксинофильными остатками геля (при окраске по Маллори), окруженными плотной волокнистой соединительной тканью. Поверхность гранул была выстлана тонкими прослойками остеоида и новообразованной ретикулофиброзной костной ткани.

При удалении от центральной зоны дефекта в стороны черепных опилов обращало на себя внимание увеличение объема новообразованной костной ткани, ее компактизация. Гранулы материала в этой области, в большинстве случаев, были полностью окружены трабекулами костной ткани, формирующими единую балочную сеть. (рис. 1.)

Во 2-группе (ген-активированный альгинатный гель) как и в контрольной группе, к указанному сроку целостность теменной кости не была восстановлена, однако, обращали на себя внимание новообразованные островки костной ткани, располагающиеся на всём протяжении регенерата – часть этих островков была цельной, другая часть только начинала

формироваться вокруг остатков гидрогеля и микрогранул ОКФ. Расположение этих участков остеогенеза позволяло предположить, что процесс костеобразования проходил на поверхности материала с последующей его резорбцией, что, вероятно, связано с его остеокондуктивным и остеоиндуктивным свойствами. Признаки воспаления и огромные полинуклеатные клетки инородных тел не были обнаружены. (рис. 2.)

Закключение. Таким образом, при сравнении результатов обеих групп, был выявлен ряд общих закономерностей: целостность черепа не была восстановлена к максимальным срокам,

формирование мощного костного регенерата происходило преимущественно со стороны костных опилов – костная ткань в этой области имела пластинчатое строение, визуализировалась как мощная пластинка, рост которой происходил от периферии к центру. Остатки остеопластического материала определялись в единичных количествах.

В центральной

зоне дефекта репаративный остеогенез протекал непосредственно вокруг гранул ОКФ, регенерат был представлен костной тканью смешанного строения, костные балки, в большинстве случаев, были окружены фиброзной тканью и не формировали единую трабекулярную сеть.

Значимыми различиями между группами следует считать долю костного регенерата и количество новообразованных кровеносных сосудов, т.к. в экспериментальной группе эти параметры значительно преобладали по объёму.

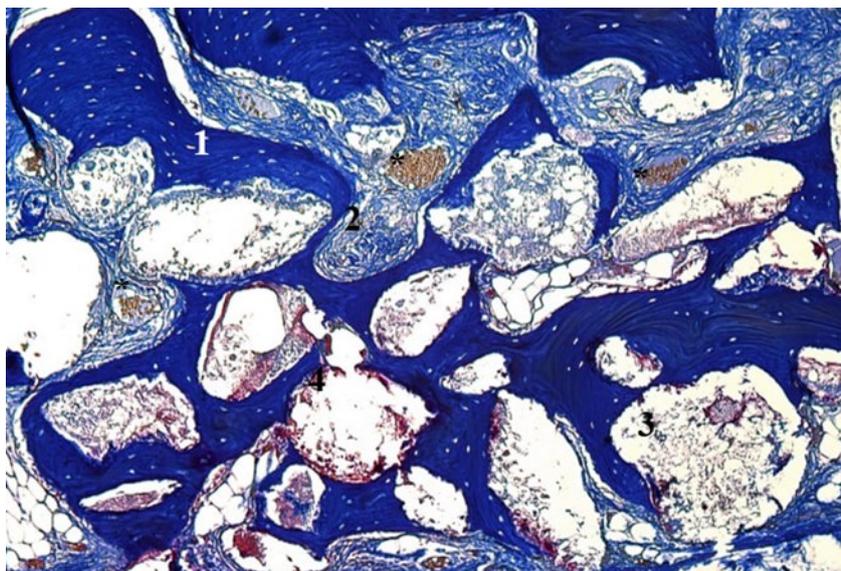


Рис. 1. Структура регенерата в центральной зоне дефекта: трабекулы костной ткани смешанного строения (1) окружали остатки альгинатного гидрогеля (2) и фрагменты гранул ОКФ (3). Межбалочное пространство было заполнено соединительной тканью с разной упорядоченностью коллагеновых волокон (4). () – новообразованные сосуды. Окраска: трихром по Маллори. Ув. ×100.*

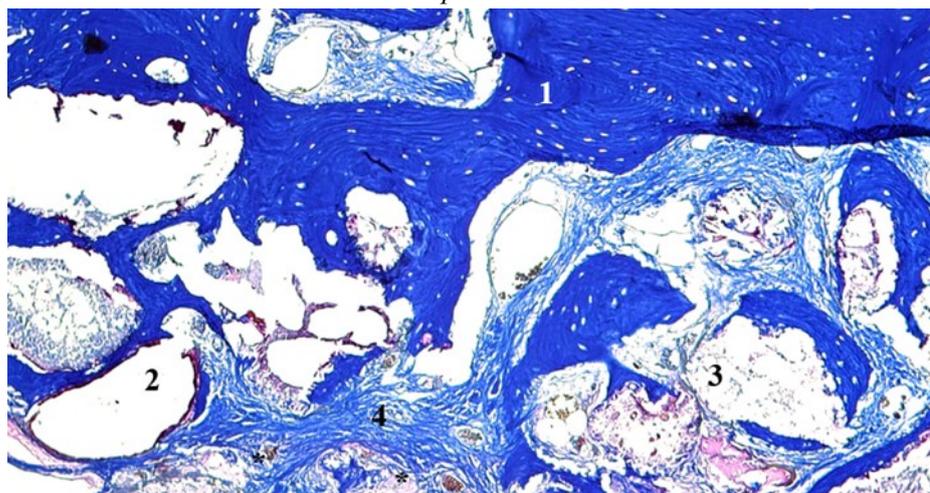


Рис. 2. Структура регенерата в прикраевой зоне дефекта: сеть трабекул костной ткани смешанного строения (1); соединительная ткань с разной упорядоченностью коллагеновых волокон (2); кровеносные сосуды (); остатки гранул ОКФ (3); следы гидрогеля (4). Окраска: трихром по Маллори. Ув. ×100.*

Использованная литература:

1. Бозо И. Я. и др. Ген-активированные гидрогели в регенеративной медицине //Гены и клетки. – 2019. – Т. 14. – №. 1. – С. 16-21.
2. Волков А. В. Морфология репаративного остеогенеза и остеоинтеграции в челюстно-лицевой хирургии: специальность 14.03. 02" Патологическая анатомия": диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. – 2018.
3. Гурин А. Н. и др. Направленная регенерация костной ткани с использованием барьерной мембраны на основе альгината натрия и октакальциевого фосфата //Гены и клетки. – 2013. – Т. 8. – №. 4. – С. 70-77.
4. Che J. et al. Biologically responsive carrier-mediated anti-angiogenesis shRNA delivery for tumor treatment // Scientific reports. – 2016. – Т. 6. – №. 1. – С. 35661.
5. d'Alimonte I. et al. Vascular endothelial growth factor enhances in vitro proliferation and osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells //Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents. – 2011. – Т. 25. – №. 1. – С. 57-69.
6. Deev R., Drobyshev A., Bozo I. et al. Angiogenic non-viral gene transfer: from ischemia treatment to bone defects repair // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2014. Vol. 8. Suppl. 1. P. 64–65.
7. Kim W. J. et al. Cholesteryl oligoarginine delivering vascular endothelial growth factor siRNA effectively inhibits tumor growth in colon adenocarcinoma //Molecular Therapy. – 2006. – Т. 14. – №. 3. – С. 343-350.
8. Liu G. et al. Biodegradable carriers for delivery of VEGF plasmid DNA for the treatment of critical limb ischemia //Frontiers in Pharmacology. – 2017. – Т. 8. – С. 528.
9. Mayr-Wohlfart U. et al. Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts //Bone. – 2002. – Т. 30. – №. 3. – С. 472-477.
10. Wei Z. et al. Hydrogel vehicles for sequential delivery of protein drugs to promote vascular regeneration // Advanced drug delivery reviews. – 2019. – Т. 149. – С. 95-106.