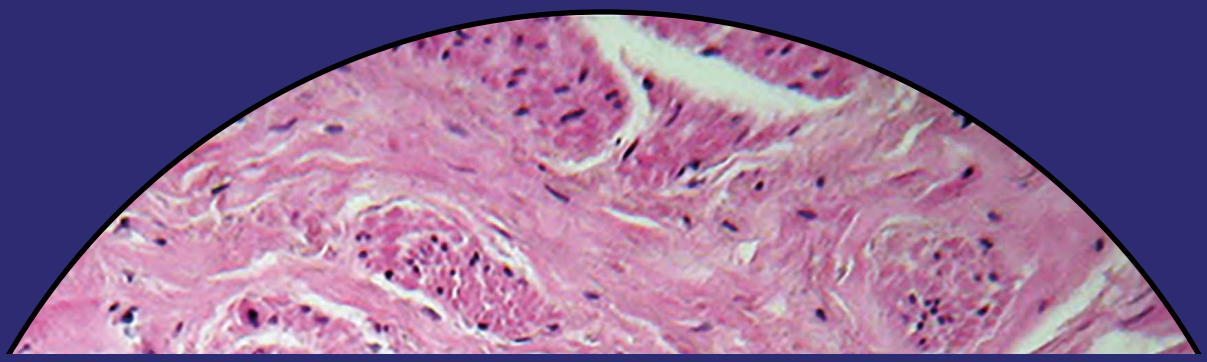


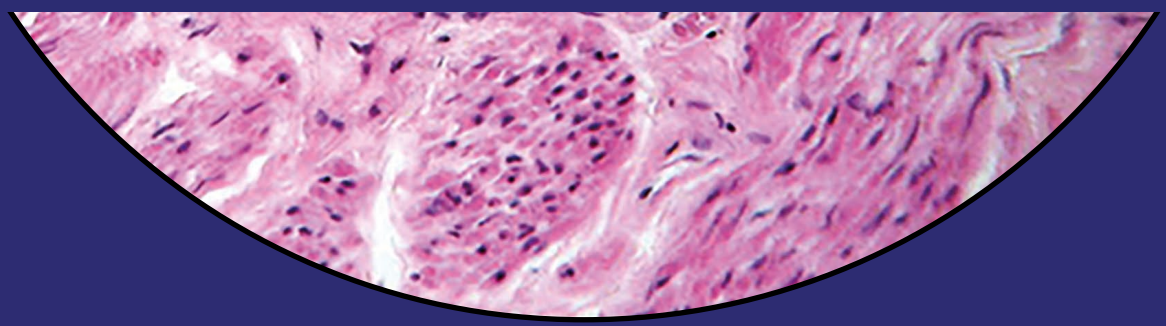
Материалы
VI Национального конгресса по регенеративной медицине

13–15 ноября 2024 года, Санкт-Петербург

под патронажем редколлегии журнала
«Морфология»

Proceedings
of the VI National Congress on Regenerative Medicine

November 13–15, 2024, Saint Petersburg



DOI: https://doi.org/10.17816/morph.konf2024

ЭКО•ВЕКТОР

https://congress.regmedru.com/ru

2024

Орлова П.А.[1] ✉, Карягина А.С.[1–3], Булыгина И.Н.[1,2], Зайцева С.В.[1,2], Пермякова Е.С.[2], Кудинова А.Г.[1], Кудан Е.В.[2], Даценко В.П.[1], Жулина А.В.[1], Грунина Т.М.[1], Гришин А.В.[1], Попонова М.С.[1], Кривозубов М.С.[1], Струкова Н.В.[1], Сенатов Ф.С.[1,2], Лунин В.Г.[1], Громов А.В.[1,2]

Бифункциональные имплантаты, включающие СВМПЭ, BMP-2 и лизостафин: *in vitro* и *in vivo* характеристика

[1] Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия
[2] Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва, Россия
[3] НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

✉ p.orlova88@gmail.com

Аннотация. Разработан новый бифункциональный имплантат на основе пористого СВМПЭ с частицами кальций-магний-силикатной керамики диопсида в качестве носителя BMP-2 и геллан-ксантанового гидрогеля с рекомбинантным лизостафином, обладающий выраженными остеогенными свойствами и антистафилококковой активностью.

Ключевые слова: BMP-2; диопсид; геллан-ксантановый гидрогель; имплантат; лизостафин; остеогенез; *Staphylococcus aureus*; СВМПЭ.

Orlova P.A.[1], Karyagina A.S.[1–3], Bulygina I.N.[1,2], Zaitseva S.V.[1,2], Permyakova E.S.[2], Kudinova A.G.[1], Koudan E.V.[2], Datsenko V.P.[1], Zhulina A.V.[1], Grunina T.M.[1], Grishin A.V.[1], Poponova M.S.[1], Krivozubov M.S.[1], Strukova N.V.[1], Senatov F.S.[1,2], Lunin V.G.[1], Gromov A.V.[1,2]

Dual-functional implants based on UHMWPE, BMP-2 and lysostaphin: *in vitro* and *in vivo* characterization

[1] Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia
[2] Laboratory of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, National University of Science and Technology “MISIS”, Moscow, Russia
[3] Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract. A new bifunctional implant based on porous UHMWPE with particles of calcium-magnesium-silicate ceramics diopside as a carrier of BMP-2 and gellan-xanthan hydrogel with recombinant lysostaphin was developed. It has excellent osteogenic properties and antistaphylococcal activity.

Keywords: BMP-2; diopside; gellan-xanthan hydrogel; implant; lysostaphin; osteogenesis; *Staphylococcus aureus*; UHMWPE.

Лечение инфицированных костных дефектов — сложная проблема, т.к. инфекция значительно снижает регенеративный потенциал и замедляет заживление дефекта. Основным инфекционным агентом, вызывающим остеомиелит, является *Staphylococcus aureus*. Разработка бифункциональных имплантируемых материалов, остеогенность которых определяется наличием костного морфогенетического белка-2 (BMP-2), а антибактериальные свойства — присутствием антибактериального лизина, является одним из актуальных направлений в разработке новых остеопластических материалов. В нашей предыдущей работе описано создание такого рода имплантата на основе гидрогеля [1]. Для заполнения дефектов костной ткани в области, несущей нагрузку, необходимо создание гибридных имплантатов на основе жесткого скаффолда.

Лицензия CC BY-NC-ND 4.0

В качестве скаффолда для имплантата мы использовали пористый сверхвысокомолекулярный полиэтилен (СВМПЭ) с добавлением микрочастиц кальций-магний-силикатной биокерамики диопсида (Dio) или без него и с обработкой низкотемпературной плазмой или без нее. Проводили отработку введения BMP-2 и антибактериального лизина лизостафина (LST) в скаффолды с целью достижения постепенного выхода BMP-2 для индукции остеогенеза и взрывного выхода LST для немедленной элиминации стафилококковой инфекции в области имплантации.

Показано, что обработка низкотемпературной плазмой приводила к связыванию бóльших количеств рекомбинантных белков с СВМПЭ скаффолдом, но не со скаффолдом состава СВМПЭ + Dio. При этом скаффолд СВМПЭ + Dio полностью связывал 50 мкг BMP-2 и только 10–11 мкг из нанесённых 20 мкг LST, что могло быть недостаточно для полной элиминации стафилококка в экспериментах *in vivo*. Для повышения количества вводимого в имплантат LST было решено вводить лизостафин в составе геллан-ксантанового гидрогеля. При самопроизвольном введении гидрогеля в образцы СВМПЭ показано, что для нетравлёного СВМПЭ присутствие в его составе диопсида увеличивает всасывание гидрогеля примерно в 1,5 раза, в случае травлёного СВМПЭ и в присутствии диопсида и в его отсутствии образцы всасывали примерно в 2 раза больше гидрогеля. Максимальное количество гидрогеля (в 3 раза больше) вводилось в скаффолд при центрифугировании. Введение в скаффолд LST в составе гидрогеля с помощью центрифугирования позволило увеличить его количество до 80 мкг на образец. СЭМ лиофилизированных образцов с введённым гидрогелем демонстрирует присутствие плёнок гидрогеля в порах имплантата.

Оценку цитосовместимости образцов СВМПЭ с диопсидом и без, обработанных и необработанных низкотемпературной плазмой, проводили с помощью тестов на клетках линии миобластов C2C12. Клетки хорошо прикреплялись к поверхности всех образцов, через сутки наблюдалось полное распластывание клеток. В ходе культивирования клетки пролиферировали, через неделю они заняли всю поверхность образца. Это свидетельствует о высокой цитосовместимости всех образцов. Жизнеспособность клеток линии C2C12 после инкубации с экстрактами образцов, которую оценивали через 24 и 72 ч для всех образцов, — без и с травлением низкотемпературной плазмой, без и с рекомбинантными белками — составила 85–100%. Присутствие в составе СВМПЭ скаффолда частиц диопсида, травление низкотемпературной плазмой, а также введение в имплантаты LST и имитация введения LST не влияют на распластывание сфероидов из клеток C2C12. Напротив, введение BMP-2 положительно влияло на процессы распластывания сфероидов и миграции из них клеток, при том, что при имитации введения BMP-2 наблюдается замедление распластывания по сравнению с контролем.

Поскольку присутствие диопсида, в отличие от травления, давало явные преимущества для свойств скаффолда, в экспериментах *in vivo* использовали блоки пористого СВМПЭ с диопсидом размером 3×3×4 мм с 50 мкг BMP-2 и 80 мкг LST, введённым в составе геллан-ксантанового гидрогеля.

В эксперименте *in vivo* на мышиной модели сегментарного дефекта бедренной кости с интрамедуллярной фиксацией спицей показано, что через 9 недель в группе животных с СВМПЭ + Dio + BMP-2 + LST с инфекцией *S. aureus* по данным микроКТ и гистологического анализа наблюдалась полная интеграция имплантата с материнской костью с врастанием костной ткани в поры имплантата на фоне отсутствия инфекции в области имплантации и окружающих мягких тканей. По данным теста на инвалидизацию на приборе Incapacitance Meter (Global Bio Inc, США) в этой группе происходило практически полное восстановление функции оперированной конечности. В группе без LST выявлялось инфицирование тканей, интеграции имплантата с костью и восстановления функции не наблюдалось. Полученные данные свидетельствуют о высоком потенциале разрабатываемого имплантата для лечения инфицированных дефектов кости.

Исследование поддержано Российским научным фондом (проект № 22-15-00216).

Список литературы

1. Karyagina A.S., Grishin A.V., Kudinova A.G., et al. Dual-functional implant based on gellan-xanthan hydrogel with diopside, BMP-2 and lysostaphin for bone defect repair and control of staphylococcal infection // Macromol Biosci. 2024. ID e2400205. doi: 10.1002/mabi.202400205

Лицензия CC BY-NC-ND 4.0