

На правах рукописи

Денисов Артём Александрович

**ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИМЕРНОГО МАТРИКСА,
КОЛОНИЗИРОВАННОГО ДЕРМАЛЬНЫМИ АУТОФИБРОБЛАСТАМИ,
ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕННОГО УЧАСТКА БРЮШИНЫ
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

3.1.9. Хирургия

1.5.22. Клеточная биология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Курск – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России).

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор **Липатов Вячеслав Александрович**,
кандидат медицинских наук, доцент **Мишина Екатерина Сергеевна**.

Официальные оппоненты:

Андреев Александр Алексеевич – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры общей и амбулаторной хирургии;

Блинова Екатерина Валериевна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «__» _____ 20__ года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 21.2.015.01 при ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России по адресу: 305041, город Курск, ул. Карла Маркса, дом 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России и на сайте: <https://kurskmed.com/>.

Автореферат разослан «__» _____ 20__ г.

Ученый секретарь

диссертационного совета, д.м.н., профессор

Маль Галина Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Подавляющее большинство хирургических операций (свыше 7 млн. в мире ежегодно) приходится на вмешательства на органах брюшной полости, число которых неуклонно растет в результате ряда причин: естественный прирост населения и, как следствие, увеличение частоты абдоминальной хирургической патологии, а также коморбидность, иммунодефициты и др. Данные состояния приводят к ухудшению регенерации тканей и кратно повышают риск их инфицирования после проведенного лечения. Безусловно, проблема заживления послеоперационных ран имеет не только медицинское, но и социально-экономическое значение [Горенинский Р.О., Гуляев С.И., Иванов А.Н., 2025].

Процесс регенерации тканей в послеоперационном периоде сложен и его нарушение может привести к ряду осложнений, среди которых: нагноение, нарушение функции органа и некроз тканей, распространение гнойно-воспалительного процесса на здоровые органы и ткани, спаечный процесс брюшной полости. Принимая во внимание вышеобозначенные проблемы, достижение быстрого восстановления поврежденных тканей является одной из важнейших задач, особенно в условиях коморбидной патологии (пожилой и старческий возраст, иммунодефицитные состояния, в том числе связанные с применением противоопухолевых средств, хронические заболевания, ассоциированные с повреждением эндотелия сосудов, перенесенные тяжелые вмешательства, в частности удаление органа или его резекция) [Яценко А.А., Кит О.И., 2021].

Несмотря на широкий перечень методик и средств, направленных на стимуляцию процесса регенерации тканей, интерес к данной проблеме не угасает. Существует ряд проблем, обусловленных отсутствием в арсенале хирургов ранозаживляющих средств с программируемым действием, персонализированного подхода при лечении пациентов в послеоперационном периоде. Среди существующих подходов к стимуляции процессов регенерации выделяются биологические, химические и физические методики. Биологический метод занимает лидирующую позицию благодаря эффективному применению

коллагеновых материалов. Коллаген обладает уникальной способностью создавать структурированную матрицу непосредственно в зоне повреждения, стимулируя локальные иммунные реакции, активируя процессы пролиферации и миграции клеток иммунной системы (гранулоциты, макрофаги), обеспечивая миграцию фибробластов и улучшая доставку биологически активных молекул (факторов роста). Одновременно коллаген индуцирует формирование новых кровеносных сосудов (ангиогенез) [Лебедева А.И., Мараева Е.В., 2021].

Применение специально подготовленных коллагеновых матриц, заселенных аутологичными клеточными культурами пациента (фибробластами), позволяет значительно ускорить процесс восстановления поврежденных тканей и органов, особенно в послеоперационном периоде [Омелько Н.А., 2022].

Такой подход обеспечивает персонализированное лечение и минимизирует риски осложнений, характерные для традиционной терапии спаечного процесса брюшной полости, поскольку основывается на технологиях тканевой инженерии, способствующих целенаправленному персонализированному формированию зрелых рубцовых структур без избыточного образования патологической грануляционной ткани [Боброва М.М., Сафонова Л.А., 2020].

Степень проработанности темы. Вопросы программируемой регенерации тканей обладают неоспоримой актуальностью на протяжении многих лет. Невозможно обойти вниманием и тот факт, что последние 10 лет во всем мире кратно возросло количество экспериментальных работ, посвященных разработке тканеинженерных 3D конструкций, способных локально и персонализированно стимулировать восстановление тканей или заместить поврежденные участки органов и тканей. Большую популярность набирает объединение клеточных и аддитивных технологий. Все вышеперечисленные направления исследовательских работ направлены на сохранение и восстановление поврежденных органов и тканей, их функций и нивелирование вероятных осложнений, что напрямую влияет на социальные и психологические аспекты жизни пациента. В настоящее время активно прорабатываются этические и правовые вопросы культивирования клеток человека и их нанесение

на трехмерные конструкции, разрабатывается и дополняется тактика ведения пациентов, которым показано применение биотехнологического лекарственного препарата.

В последние годы данную тему неоднократно освещали в своих трудах такие исследователи, как Д.И. Рябкин (2023 г.), С.С. Дыдыкин (2024 г.), Е.В. Блинова (2024 г.), Р.М. Бадыров (2024 г.). Кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии и лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины КГМУ работы, освещающие применение тканеинженерных конструкций с целью программируемой репарации поврежденных тканей, рассматриваются в качестве перспективного научного направления, которые до настоящего момента не прорабатывались. Однако технологический процесс разработки матриц, заключающийся в лиофильном высушивании полимерных растворов, лежал в основе работ В.А. Липатова, С.В. Лазаренко, Д.А. Северинова, А.А. Панова. Предложенные методики испытания изделий *in vitro* универсальны и могут быть использованы для изучения порошков, гелей, губчатых изделий, материалов с добавленными свойствами.

В настоящее время нельзя утверждать, что достигнуты удовлетворительные результаты лечения пациентов с повреждениями стенок серозных полостей организма, покрытых серозой органов и тканей уже имеющимися средствами.

Известно, что одним из важных свойств фибробластов, культуры которых наносят на трехмерные конструкции, является универсальность. Находясь на низком уровне дифференцировки, они способны сформировать соединительную ткань, характерную для области аппликации.

Таким образом, актуальность исследования не вызывает сомнения, и несмотря на высокий интерес к скаффолд-технологиям со стороны исследователей, вопрос экспериментальной апробации эффективности применения данных изделий, а также их безопасности, остается недостаточно изученным.

Цель исследования.

Обосновать эффективность применения ранозаживляющего матрикса, заполненного культурой дермальных аутофибробластов при операциях на органах брюшной полости и для восстановления дефекта брюшины в эксперименте.

Задачи исследования.

1. Оценить физико-механические и химические свойства разработанных образцов полимерных матриксов.
2. Изучить структурные свойства разработанных полимерных матриксов.
3. Разработать способ и изучить темпы заполнения полимерных матриксов колониями дермальных фибробластов.
4. Оценить ранозаживляющее действие коллагеновых матриксов, заполненных колониями дермальных аутофибробластов на модели механической травмы брюшины.
5. Изучить реакцию тканей на имплантацию в подкожно-жировую клетчатку прекондиционированных культурами клеток и непрекондиционированных матриксов в сравнительном аспекте.
6. Изучить динамику интеграции импланта в тканевые структуры слепой кишки и брюшины при использовании коллагеновых матриксов, заполненных дермальными аутофибробластами.

Научная новизна исследования. Предложены два варианта полимерных матриксов на основе коллагена морского происхождения: способ получения пористого коллагенового матрикса (патент на изобретение № 2023110131 от 20.04.2023 г.); способ получения пористого коллагенового матрикса на основе морского коллагена с использованием глутарового альдегида (патент на изобретение № 2023131023 от 24.06.2024 г.), отличающихся использованием сшивающего агента (кросслинкера) и режимами лиофильной сублимации.

Предложен способ заполнения матриксов культурами фибробластов (патент на изобретение № 2850692 от 12.11.2025 г.).

Теоретическая и практическая значимость работы. Важным преимуществом применения тканеинженерных конструкций для восстановления поврежденных тканей является персонализированное использование (на матрикс наносятся культуры фибробластов этого же пациента, что сводит к минимуму побочные действия биогенного характера и ускоряют интеграцию). Применение новых матриксов, колонизированных культурами фибробластов, позволит эффективно решить вопросы, связанные с длительно заживающими повреждениями внутренних органов и тканей.

Использование коллагена морского происхождения в качестве основы для изготовления матрикса позволит в будущем получать новые биологически инертные, эффективные и безопасные изделия медицинского назначения, а также лекарственные препараты.

Предлагаемое в работе решение открывает возможность разработки целого ряда 3D полимерных структур, предполагающих их непосредственное использование при проведении хирургических вмешательствах на органах и тканях.

Исследование проведено в рамках совместных проектов в смежных областях науки: экспериментальной хирургии, морфологии, химии, фармакологии и биотехнологии. Разработка и испытание матриксов реализованы на базе НИИ экспериментальной медицины (лаборатория экспериментальной хирургии и онкологии и испытательная лаборатория медицинских изделий) Курского государственного медицинского университета с привлечением ведущих специалистов и консультантов России и ближнего зарубежья.

Разработанный способ заполнения матриксов культурами клеток позволит в дальнейшем продолжить изготовления более сложных конструкций, имитирующих стенку полого органа, трубчатых структур (сосуды, протоки и др.).

Методология и методы диссертационного исследования. Диссертационная работа производилась в соответствии с основными методологическими принципами и правилами доказательной медицины.

В рамках написания работы были использованы экспериментальные, лабораторные, морфологические и математические методы исследования.

Объект исследования – экспериментальные образцы полимерных матриксов, культуры клеток, биологические ткани и жидкости лабораторных животных (крыс), и их препараты, цифровые изображения макро-, микро- и ультрамикроскопии.

Предмет исследования – экспериментальные характеристики разработанных образцов, клинико-лабораторные характеристики лабораторных животных, биологических жидкостей и тканей, принявших участие в острых и хронических опытах.

Для статистической обработки результатов исследования применялись методы описательной и вариационной статистики. В качестве критерия статистической значимости результатов был установлен порог $p \leq 0,05$. Обработка и анализ данных выполнялись с применением специализированного программного обеспечения: пакета Statistica версии 13 (Dell Software Company, Round Rock, Texas, США) и программы GraphPad Prism версии 9.5.1 (GraphPad Software, San Diego, California, США).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Матрикс на основе коллагена морского происхождения с добавлением глутарового альдегида обладает большей стабильностью, достаточным диаметром пор, чем аналогичный матрикс с добавлением глиоксаля.

2. Структура матрикса на основе коллагена морского происхождения с добавлением глутарового альдегида способствует эффективному культивированию дермальных аутофибробластов.

3. Прекондиционированный матрикс статистически значимо способствует снижению выраженности местной реакции тканей лабораторных животных в ответ на имплантацию.

Личный вклад автора. Диссертационная работа подготовлена автором лично, вклад автора определяется непосредственным участием на всех этапах исследования: разработка дизайна, работа с образцами по изучению их физико-механических и структурных характеристик, исследование ранозаживляющей

активности опытных образцов, моделирование травм брюшины и слепой кишки животных в эксперименте, первичная обработка полученного материала, систематизация, статистическая обработка, анализ результатов.

Внедрение результатов научных исследований. Выполненное исследование расширяет сферу показаний использования коллагена морского происхождения для клинического применения. Результаты диссертационного исследования внедрены в научную деятельность и учебный процесс (лекции и практические занятия) кафедр хирургического профиля и НИИ ЭМ КГМУ (г. Курск), ФГАОУ ВО БелГУ (г. Белгород), кафедры химии КГУ (г. Курск), учтены в производственном процессе ООО «АС РС» (г. Калининград).

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности результатов подтверждается репрезентативным объемом выборки, достаточным количеством исследуемых параметров, применением современных методов лабораторно-инструментального тестирования медицинских изделий и биологических материалов, адекватным выбором инструментов статистической обработки данных. Исследование проводилось под наблюдением Регионального этического комитета при ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 15.12.2022 г.).

Основные результаты диссертационного исследования доложены на следующих мероприятиях: I Всероссийский научно-практический конгресс с международным участием «Биотехнология и устойчивое развитие» (г. Москва, 24.10.2023-26.10.2023 г.), Международная научно-практическая конференция «Эксперимент в хирургии и онкологии» (г. Курск, 13.09.2024 г., 19.09.2025 г.), III Международная научно-практическая конференция «Клеточные технологии в экспериментальной медицине» (г. Курск, 04.10.2024 г.), «МЕДИЦИНА МОЛОДАЯ» питч-сессия Северо-Западного и Центрального Федеральных округов (г. Санкт-Петербург, 17.04.2025 г.), XXIV научно-практическая конкурсно-конференция студентов с международным участием «Молодежное научное творчество – эффективный путь подготовки медико-биологических кадров», посвященная 80-летию Победы в Великой Отечественной войне (г. Бишкек, Кыргызстан, 26.04.2025 г.), XI Всероссийская с международным

участием научная конференция молодых специалистов, аспирантов, ординаторов, посвященная 75-летию университета на Рязанской земле (г. Рязань, 16.10.2025 г.).

Апробация диссертационного исследования состоялась на совместном заседании кафедр оперативной хирургии и топографической анатомии им. А.Д. Мясникова, хирургических болезней № 1, хирургических болезней № 2, хирургических болезней ИНО, общей хирургии, хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, гистологии, цитологии, эмбриологии, лабораторий НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, протокол № 5 от «18» декабря 2025 года.

Соответствие диссертации паспорту специальности. Диссертация соответствует паспорту специальности 3.1.9. Хирургия, так как направлениями ее исследований являются экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней (п. 4) и экспериментальная и клиническая разработка современных методов хирургического лечения (п. 6).

Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.22. Клеточная биология, так как направлениями ее исследований являются изучение закономерностей изменения структурной и цитохимической организации клеток при культивировании их вне организма, определение условий для получения клеток с заданными свойствами, изучение особенностей формирования тканей *in vitro* (п. 11), клеточные технологии как основа для разработки терапевтических подходов для лечения различных патологий (п. 19).

Публикации. По материалам исследования опубликовано 9 научных статей, 4 из которых входят в категорию 2 ВАК РФ и 1 в категорию 3. Среди них 1 статья размещена в научной базе RSCI, 3 – в международной наукометрической базе Scopus, 2 из которых относятся к хирургии, а 2 к клеточной биологии. Помимо этого, получено 3 патента Российской Федерации на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 158 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Библиографический список содержит 199 источников, из них 138 –

отечественные публикации, 61 – иностранная литература. Работа иллюстрирована таблицами (16) и рисунками (48).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Разработанные образцы полимерных матриц представляли собой высушенный гель на основе коллагена морского происхождения (патент на изобретение № 2023131023 от 24.06.2024 г.). Технология подготовки растворов для образцов разработана совместно с кафедрой химии КГУ (зав. кафедрой, к.т.н. И.Б. Кометиани). Распределение материала исследования по группам отражено в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика исследуемых материалов

№	Название	Производитель	Состав
1	Матрикс коллагеновый 10% ГА	ЛЭХиО, ИЛМИ НИИ ЭМ КГМУ, кафедра химии КГУ	3% коллаген морского происхождения, 10% глутаровый альдегид
2	Матрикс коллагеновый 10% ГЛИО	ЛЭХиО, ИЛМИ НИИ ЭМ КГМУ, кафедра химии КГУ	3% коллаген морского происхождения, 10% глиоксаль
3	Повязка коллагеновая ранозаживляющая	ЗАО «Зеленая дубрава», Россия	Коллагена раствор (лиофилизированный) – 100%
4	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	ТАКЕДА, Австрия	Коллагеновая губка, с содержанием в 1 см ² активных веществ: фибриноген – 5,5 мг; тромбин – 2 МЕ; альбумин – 2,9 мг; L-аргинина гидрохлорид – 2,8 мг; коллаген – 2,1 мг; натрия хлорид – 1,5 мг; натрия цитрат – 0,4 мг; рибофлавин – 18,2 мкг
5	AKSOLAGEN MEMBRANE	ООО «АС РС», Россия	Очищенная внутренностная фасция гигантского кальмара

Для изучения физико-механических свойств использовали электромеханический стенд РЭМ-0,2-1 (ООО «МЕТРОТЕСТ», РФ). Образцы размещали на подвижной траверсе стенда, далее осуществляли поступательное перемещение индентора со скоростью 3 мм/мин до разрушения образца. Оценку сорбционной способности матриц проводили гравиметрическим методом. Образцы стандартизировали до размеров 10×10×1 мм, определяли их исходную массу. Далее объекты погружали на 5 минут в дистиллированную воду ($t=37^{\circ}\text{C}$), затем переносили в подготовленные пробирки, центрифугировали в режиме 1500 г в течение 5 минут. После извлечения матриц (скаффолдов) с фильтровальной прокладки фиксировали их конечную массу. Адгезивные свойства материалов оценивали методом *ex vivo* с использованием брюшины лабораторных крыс породы Вистар. Образцы размером 20×20 мм фиксировали на поверхности брюшинного лоскута. Далее измеряли усилие, необходимое для механического отделения матрицы от брюшины. Фиксировали пиковое разрывное усилие (H/m^2). Оценку pH материала проводили потенциометрическим методом.

Темпы заполнения культур фибробластов структуры матрикса изучали с помощью разработанной методики (патент РФ на изобретение RU 2850692 C1 от 12.11.2025 г.). Контроль колонизации матрикса и структурные свойства матриксов изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа Quanta 650 FEG, определяя диаметр пор и толщину волокон.

Реакцию тканей организма животных (крыс породы Вистар) на имплантацию матрикса изучали путем подкожного размещения образцов. Животных из эксперимента выводили через 7, 15 и 30 суток после вмешательства. Выполнена аутопсия, выделение соединительнотканной капсулы для определения в ней концентрации гидроксипролина, а также для оценки реакции тканей лабораторного животного. Исследования на животных выполнены с соблюдением международных этических норм под контролем РЭК при ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 15.12.2022 г.).

Для испытания полимерного матрикса, заселенного культурами клеток-фибробластов, использованы 3 экспериментальные модели на крысах породы

Вистар. В первой модели выполняли срединную лапаротомию, после чего десерозировали брюшину методом гидропрепаровки. После этого на поврежденный участок наносили исследуемый образец в зависимости от группы исследования. Во второй модели после вскрытия брюшной полости в рану выводили слепую кишку, наносили рану скарификатором до «кровоавой росы». После этого на поврежденный участок наносили исследуемые образцы. В третьей модели вместо нанесения раны слепой кишки выполняли прошивание ее стенки однорядным узловым швом викрилом 4/0 по USP. После прошивания наносили исследуемые образцы. Животных выводили на 7-е, 15-е и 30-е сутки после вмешательства, выполняя аутопсию с иссечением области имплантации и прилежащих тканей общим размером 1x1 см. Взятый материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина с последующей проводкой и заливкой в парафин по стандартной методике.

Полученные результаты подвергали статистической обработке. Для переменных, распределение которых не противоречило нормальному распределению (критерий Шапиро-Уилка), рассчитывали средние величины (M) и ошибку среднего (m). При распределении, отличающемся от нормального, применяли $Me [Q25; Q75]$. Для определения значимости влияния характеристик образцов на результаты их применения использовали факторный анализ. Считали допустимым уровень $p \leq 0,05$ (критерий Крускала-Уоллиса). В качестве ПО использовали лицензионную версию программы Statistica 13.0 (Dell Software Company, Round Rock, Texas, USA) (лицензия ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России); GraphPad Prism 9.5.1 (GraphPad Software, San Diego, California, USA) (триал-версия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

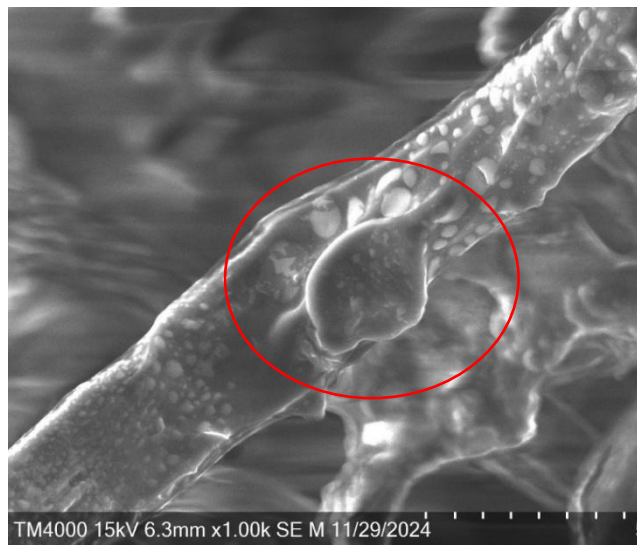
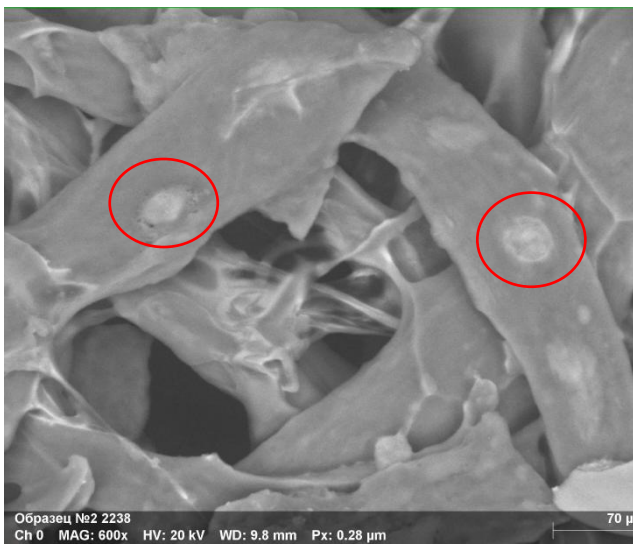
Результаты сравнительного изучения физических и химических свойств образцов полимерных матриц. При изучении степени деформации наименьший результат продемонстрировали образцы группы № 3 (30,13%), что на 8,61% ниже, чем в группе № 1 ($p=0,99$), и на 31,88% ниже, чем в группе № 2 ($p=0,0053$). При изучении сорбционной способности единицы массы высокий уровень зафиксирован в группе № 3 (0,3713), низкий – в группе № 2 (0,02037).

Статистическая значимость отличий выявлена между группами № 1 и № 3 ($p=0,0018$), № 2 и № 3 ($p=0,0001$). При оценке адгезивных свойств наибольший результат показали образцы группы № 1 (0,61 Н), самый низкий показатель – у образцов группы № 2 (0,46 Н). При этом статистически значимые отличия между группами не выявлены ($p \geq 0,05$). Высокий уровень рН зафиксирован в группе № 3 (5,18), низкий уровень отмечен у образцов группы № 2 (4,43). Статистически значимые отличия выявлены между группами № 2 и № 3 ($p=0,0383$).

При оценке степени деформации результаты говорят о возможной большей стабильности коллагена из тканей КРС или же о более эффективной химической сшивке. Из опытных образцов наименьшей степенью деформации обладает матрикс на основе «морского» коллагена с добавлением 10% ГА. Данный кросс-линкер обеспечил устойчивую к нагрузке структуру изделия. При изучении сорбционной способности единицы массы и единицы объема образцы расположились одинаково по возрастанию в последовательности № 2, № 1, № 3. Это может быть связано с большим количеством пор в структуре СККРС, что подтверждают полученные данные. В результате исследования степени адгезии образцы расположились по возрастанию в последовательности № 2, № 3, № 1. Все образцы продемонстрировали статистически незначимые результаты ($p \geq 0,05$). При оценке рН результаты распределены по возрастанию в следующей последовательности: № 2, № 1, № 3. Статистически значимые отличия выявлены лишь между группами № 2 и № 3. Данные показатели допускают возможность культивирования клеток.

Результаты изучения структурных свойств полимерных матриксов.

Наибольший диаметр пор выявлен в группе МК КРС 555,2 [508,7; 602,3] мкм, в группе МК ГА он составил 102,2 [90; 115,4] мкм. Значимые отличия определены между МК ГА и МК ГЛИО ($p=0,0032$), МК ГА и МК КРС ($p<0,0001$). Наибольшая толщина волокон зафиксирована у образцов МК ГА 42,25 мкм [35,65; 48,93]. Наименьшее значение отмечено в группе МК КРС 21,2 мкм [17,88; 25,08]. Статистически значимые отличия выявлены между МК ГА и МК ГЛИО ($p=0,0008$) и между МК ГА и МК КРС ($p=0,0002$). Наиболее рациональным для



А

Б

Рисунок 1 – Микрофотография. Фибробласты, адгезированные к поверхности волокон матрикса. А – ув. 600 х, Б – 1000 х.

Статистически значимые отличия выявлены только в группах № 1 и № 2, № 1 и № 3 ($p < 0,0001$).

Изучение уровня гидроксипролина перипротезных капсул. На 30-е сутки эксперимента содержание гидроксипролина в перипротезных капсулах животных увеличивалось в последовательности: СКМ с клетками (0,129 мг/мл) → СККРС (0,133 мг/мл) → СКМ (0,2 мг/мл). Статистически значимые отличия выявлены между группами СКМ с клетками и СКМ ($p < 0,0001$), а также СКМ и СККРС ($p = 0,0001$). Динамика концентрации гидроксипролина в группе, где применялся СКМ с клетками фибробластами, объясняется тем, что к 7-м суткам развивается реакция организма на имплантацию инородного тела, к 30-м суткам наблюдается завершённый коллагеногенез.

Изучение реакции тканей на модели повреждения брюшины. При морфологическом изучении материала на 30-е сутки эксперимента в контрольной группе на месте дефекта продолжает визуализироваться утолщённый слой соединительной ткани, от которого к прилежащей ткани отходят тонкие коллагеновые спайки. В группе «Тахокомб» на месте повреждения материал полностью резорбирован. Происходит образование пласта соединительной ткани, которая приводит к образованию спаек с прилежащими тканями. В группе Aksolagen Membrane на месте дефекта происходит мезотелизация, визуализируется клеточная инфильтрация. В группе СКМ с клетками на месте повреждения визуализируется восстановление повреждённых тканей без признаков спайкообразования. На данном сроке в группе СКМ с клетками сокращается количество фибробластов, но увеличивается количество фиброцитов, что говорит о «созревании» соединительной ткани. На месте нанесённого дефекта определяются признаки мезотелизации. По количеству фибробластов – $p \geq 0,05$ только между группами СКМ с клетками и «Тахокомб», а по количеству фиброцитов – $p \geq 0,05$ между группой «Тахокомб» и контролем.

Изучение реакции тканей на модели повреждения слепой кишки. При морфологическом изучении на 30-е сутки эксперимента в контрольной группе определяется образование спаек с незначительной воспалительной фильтрацией. В группе «Тахокомб» сохраняется воспалительно-клеточная фильтрация с

образованием гранулем. В группе Aksolagen Membrane в серозной оболочке видны остатки материала, преобладают клетки фибробластического дифферона, макрофаги и единичные гигантские многоядерные клетки. В группе СКМ с клетками серозная оболочка не утолщена, воспалительных изменений нет, на поверхности определяются клетки мезотелия. Данные показывают, что наибольшее количество фибробластов и фиброцитов определяется в группе СКМ с клетками, а в остальных группах преобладают макрофаги, гранулоциты, агранулоциты.

Изучение реакции тканей на модели однорядного узлового шва слепой кишки. При морфологическом изучении материала на 30-е сутки эксперимента в контрольной группе продолжает визуализироваться незрелая соединительная ткань с образованием спаек. В группе «Тахокомб» происходит образование спаек, состоящих из рыхлой волокнистой ткани с полиморфноклеточной инфильтрацией. При использовании Aksolagen Membrane и СКМ с клетками в зоне размещения происходит образование соединительной ткани без воспалительных изменений. По количеству фибробластов – $p \leq 0,05$ между группами СКМ с клетками, «Тахокомб» и контроль. По концентрации фиброцитов значимые отличия определены между СКМ с клетками и остальными группами исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основываясь на проведенных экспериментальных исследованиях, можно заключить, что полимерный матрикс на основе коллагена морского происхождения с 10% ГА не только не уступает, а по некоторым параметрам и превосходит имеющиеся аналоги. Особенности структуры матрикса обеспечивают высокую адгезию и выживаемость клеток в толще имплантата. Экспериментально *in vivo* (на крысах породы Вистар) доказана высокая биосовместимость разработанных конструкций. Гистологический анализ подтвердил отсутствие выраженной воспалительной реакции, ускоренное созревание соединительной ткани (динамика фибробластов и фиброцитов) и стимуляцию коллагеногенеза за счет культуры аутофибробластов для

мезотелизации. Установлено, что применение разработанного матрикса способствует регенерации поврежденных участков брюшины.

ВЫВОДЫ

1. Степень деформации образцов матриксов на основе коллагена КРС была на 8,11% ниже, чем в 1-й группе, и на 31,88% ниже, чем во 2-й группе. Сорбционная способность единицы массы в этой же группе в 7,2 раза выше, чем в 1-й группе и в 18,22 раза выше, чем во 2-й группе. Сорбционная способность единицы объема в группе СККРС была в 4 раза выше, чем в 1-й группе и в 7,88 раз выше, чем во 2-й группе. Степень адгезии образцов СКМ с добавлением глутарового альдегида в 1,32 раза выше, чем во 2-й группе, и в 1,09 раз выше, чем в 3-й группе. Уровень pH образцов СККРС был в 1,12 раз выше, чем в 1-й группе, и в 1,17 раз выше, чем во 2-й группе.

2. Диаметр пор СК КРС в 1,5 раза больше, чем у СК ГЛИО и в 5,4 раза выше, чем у СК ГА ($p \leq 0,05$). Толщина волокон матриксов СК ГА в 2 раза больше, чем у СК КРС и в 1,9 раз выше, чем у СК ГЛИО ($p \leq 0,05$).

3. Разработан способ заполнения матриксов культурами фибробластов (приоритет по заявке № 2025107800 от 31.03.2025 г. на выдачу патента РФ на изобретение), получены косвенные признаки высоких темпов роста культур клеток: 7-е сутки после эксперимента в 1,3 раза выше, чем после имплантации образца без фибробластов, на 15-е сутки эта разница возрастает до 1,4 раз и к 30-м суткам до 1,5 раз.

4. В результате применения СКМ, заполненного культурами дермальных аутофибробластов, очевидны ускоренный коллагеногенез, улучшенная регенерация поврежденных тканей, а добавление клеток этого же организма усиливает репаративные процессы, купируя воспаление.

5. После подкожной имплантации на 7-е сутки в группе СКМ, заполненного культурами фибробластов, количество последних в 1,3 раза выше, чем в группе непрекондиционированного СКМ и в 2,17 раз больше, чем в группе СККРС. К 30-м суткам в прекондиционированной фибробластами группе их количество в 1,5 раза больше, чем в СКМ и в СККРС. Количество гранулоцитов

на 7-е сутки в группе с внесенными клетками в 1,25 раза меньше, чем в остальных группах. К 30-м суткам в группе СКМ с клетками было в 3 раза меньше, чем в группе без клеток, а также в 4 раза меньше, чем в группе СККРС.

6. На 30-е сутки в группе № 1 при повреждении брюшины количество фиброцитов в 1,6 раз выше, чем в группе № 2, в 4,46 раз выше, чем в группе № 3 и в 4,06 раз выше, чем в группе № 4. На модели повреждения кишки на 30-е сутки в группе № 1 количество фиброцитов в 1,54 раза выше, чем в группах № 2 и № 3, в 2,11 раз выше, чем в группе № 4. При укрытии однорядного узлового шва на слепой кишке в группе № 1 количество фиброцитов в 2,29 раз выше, чем в группе № 2, в 2,4 раза выше, чем в группе № 3 и в 4 раза выше, чем в группе № 4.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Предложенный полимерный матрикс на основе коллагена морского происхождения с добавлением ГА и технологию его получения рекомендовать для изготовления биомедицинского клеточного препарата для нужд хирургии.

2. Разработанный способ заполнения 3D конструкции колониями клеточных культур может быть использован для дальнейшей разработки биополимерных клеточных препаратов и для применения в условиях клиник.

3. Алгоритмы изучения полимерных матриксов применять для оценки эффективности новых тканеинженерных конструкций на доклиническом этапе.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты исследования являются предпосылкой к развитию нового научного направления, задача которого: разработка научно обоснованного персонализированного подхода к лечению пациентов, получивших ранение полых органов брюшной полости и тубулярных структур. В дальнейшем добавление слоев морфологически различных клеток обеспечит замещение поврежденных или резецированных тканей с сохранением функции органа.

Открывается перспектива разработки ассортимента средств для отдельных хирургических отраслей с учетом специфики и клинических потребностей. Немаловажно разработать технологию управления параметрами, влияющими на клеточные культуры. Перспективным является поиск новых полимерных основ

для тканеинженерных конструкций. Необходимо продолжение исследований по изучению и применению новых тканеинженерных конструкций, а также методологических наборов для комплексного анализа их эффективности и безопасности в условиях доклиники.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Денисов, А.А. Преимущества и недостатки современных тканеинженерных конструкций / А.А. Денисов, К.А. Корельская // Эксперимент в хирургии и онкологии : Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, Курск, 13 сентября 2024 года. – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2024. – С. 85-87.

2. Денисов, А.А. Современные тканеинженерные конструкции и их применение в хирургии (обзор литературы) / А.А. Денисов, В.А. Липатов, Е.С. Мишина // Innova. – 2025. – Т. 11, № 3. – С. 62-66.

3. Денисов, А.А. Частотный и контент-анализ как первый этап исследовательского проекта / А.А. Денисов, К.А. Корельская // Клеточные технологии в экспериментальной медицине : Сборник научных трудов по материалам III Международной научно-практической конференции, Курск, 04 октября 2024 года. – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2024. – С. 104-106.

4. Липатов, В.А. К вопросу количественных методов оценки клеточных культур / В.А. Липатов, А.А. Денисов // Студенческая научно-исследовательская лаборатория: итоги и перспективы : сборник научных трудов по материалам V Международной научной конференции, Курск, 26 мая 2022 года. – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2022. – С. 121.

5. Оценка эксплуатационных свойств полимерных тканеинженерных матриц на основе коллагена in vitro / В.А. Липатов, А.А. Денисов, Т.Н. Кудрявцева [и др.]. – DOI 10.35401/2541-9897-2025-10-3-76-82 // Инновационная медицина Кубани. – 2025. – Т. 10, № 3. – С. 76-82.

6. Разработка тканеинженерных конструкций и их применение в современной медицине / А.А. Денисов, В.А. Плотников, Е.С. Мишина [и др.] //

Клеточные технологии в экспериментальной медицине : сборник научных трудов по материалам II Международной научно-практической конференции, Курск, 30 сентября 2022 года. – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2022. – С. 118-119.

7. Способ заполнения полимерных 3D конструкций на основе коллагена колониями дермальных аутофибробластов / В.А. Лазаренко, В.А. Липатов, Е.С. Мишина [и др.] // Человек и его здоровье. – 2024. – Т. 27, № 3. – С. 59-64.

8. Сравнительное изучение структурных свойств полимерных матриц / В.А. Липатов, В.А. Арляпов, А.А. Денисов [и др.]. – DOI 10.17116/operhirurg2025904147 // Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). – 2025. – Т. 9, № 4. – С. 47-51.

9. Тканевая инженерия в хирургии: история развития и современные аспекты применения / В.А. Липатов, Е.С. Мишина, А.А. Денисов [и др.]. – DOI 10.31146/1682-8658-ecg-226-6-149-154 // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2024. – № 6(226). – С. 149-154.

10. Патент № 2808686 С1 Российская Федерация, МПК С07К 14/78, С08К 5/07, А61L 27/24. Способ получения пористого коллагенового матрикса : № 2023110131 : заявл. 20.04.2023 : опубл. 01.12.2023 / Т.Н. Кудрявцева, А.С. Ванина, Е.В. Грехнева [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный университет». – 9 с.

11. Патент № 2821401 С1 Российская Федерация, МПК С07К 14/78, С08К 5/07, А61L 27/24. Способ получения пористого коллагенового матрикса на основе морского коллагена с использованием глутарового альдегида : № 2023131023 : заявл. 28.11.2023 : опубл. 24.06.2024 / Т.Н. Кудрявцева, А.С. Ванина, Е.В. Грехнева [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный университет», Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный

медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 7 с.

12. Патент № 2850692 С1 Российская Федерация, МПК А61В 17/03, А61К 38/39. Способ заполнения полимерных 3D конструкций на основе коллагена колониями дермальных аутофибробластов : заявл. 31.03.2025 : опубл. 12.11.2025 / В.А. Лазаренко, В.А. Липатов, Е.С. Мишина [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 9 с. : ил.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

КРС – крупный рогатый скот

ПО – программное обеспечение

СКМ – скаффолд на основе коллагена морского происхождения

СККРС – скаффолд на основе коллагена крупного рогатого скота

ГА – глутаровый альдегид

ГЛИО – глиоксаль (альдегид щавелевой кислоты)

ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

ФГБОУ ВО КГУ – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный университет»

НИИ ЭМ КГМУ – научно-исследовательский институт экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета

ЛЭХиО НИИ ЭМ КГМУ – лаборатория экспериментальной хирургии и онкологии научно-исследовательского института экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета

ИЛМИ НИИ ЭМ КГМУ – испытательная лаборатория медицинских изделий научно-исследовательского института экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета

Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.
Сдано в набор 03.04.2026 г. Подписано в печать 06.04.2026 г.
Формат 30x42 $\frac{1}{8}$. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Rom.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,0.
Тираж 100 экз. Заказ № 382 «А».

Издательство Курского государственного медицинского университета
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3