

Институт Стволовых Клеток Человека

Московский государственный медико-стоматологический университет

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет

им. акад. И.П. Павлова

НИЦ «Курчатовский институт»

Институт общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова

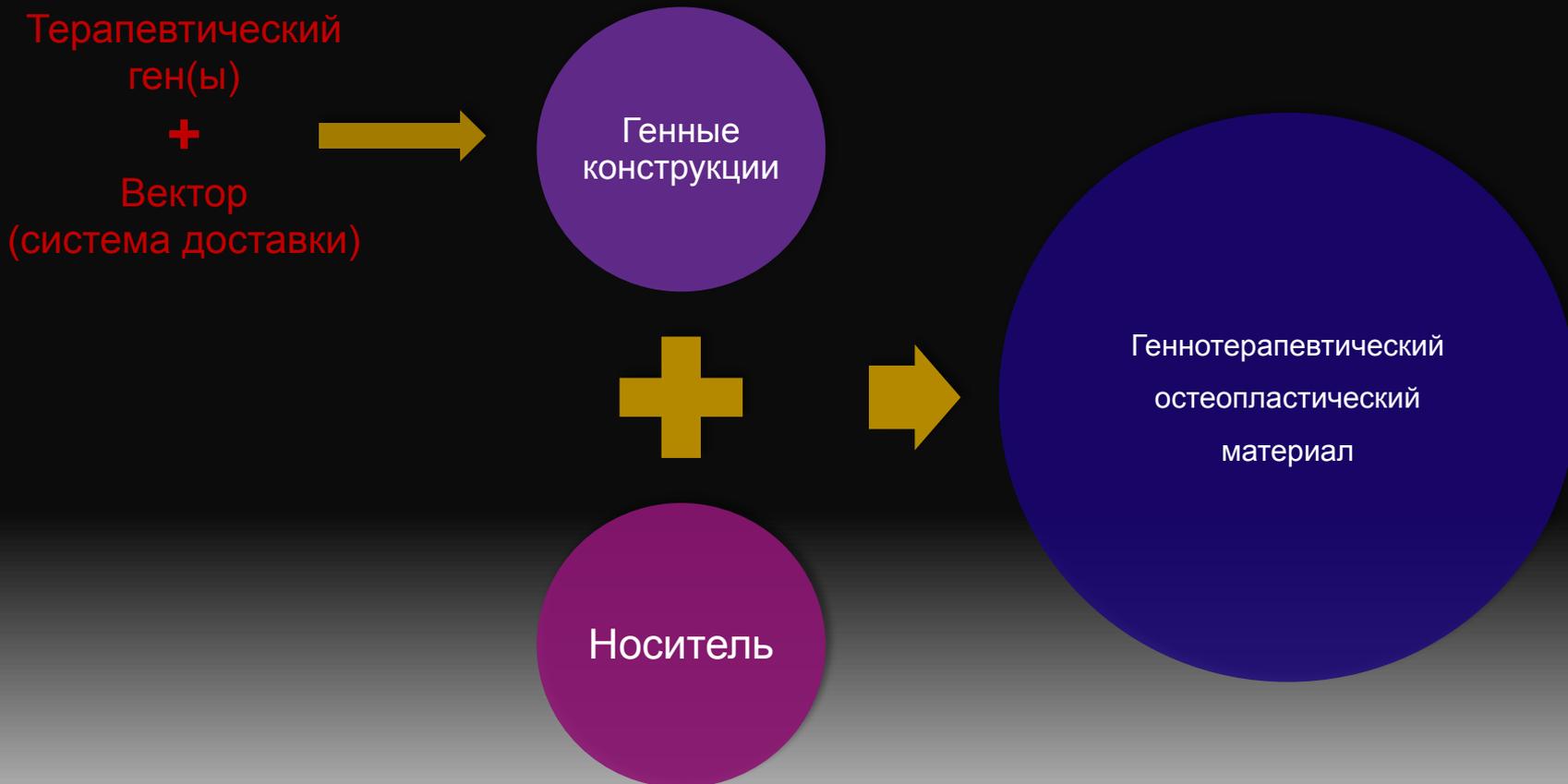
Геннотерапевтический остеопластический материал

**И.Я. Бозо, Р.В. Деев , А.Ю. Дробышев, Д.В. Галецкий, В.
О. Королев, Е.С. Филоненко , С.Л. Киселев**

Москва-Уфа, 2012

Генотерапевтический остеопластический материал

Изделие медицинского назначения, состоящее из носителя и активного компонента – генных конструкций, определяющих специфику механизма действия материала



Механизм действия геннотерапевтического остеопластического материала

Высвобождение генных
конструкций из структуры
носителя

ДНК-плазмиды с
терапевтическим
геном

Трансфекция *in vivo*

Клетки как «биореакторы»
терапевтического белка

Репаративный остеогенез

Клетки-мишени

Остеоиндуцирующий фактор



Цель исследования

Проверка концепции, предполагающей возможность использования генных конструкций в качестве активных компонентов разрабатываемых костнозамещающих материалов.

Дизайн исследования

Лабораторный этап

Отбор из представленных на рынке остеопластических материалов тех носителей, с которыми ДНК-плазмиды могут образовать химическую связь

Эксперимент in vivo

Оценка эффективности геннотерапевтических материалов в замещении костных дефектов

Материалы и методы

1. Генные конструкции на основе субстанции «Камбиоге́нплазмид», представляющую собой сверхскрученную плазмидную ДНК с геном сосудистого эндотелиального фактора роста ($pVEGF_{165}$).
2. Ряд различных по составу остеопластических материалов (синтетические и природные на основе коллагена, гидроксиапатита, трикальцийфосфатов).



Лабораторный этап – отбор двух носителей, способных связывать наибольшее количество гДНК-плазмид, состоящий из совмещения материалов и субстанции, отмывки, элюирования связавшейся с носителем фракции субстанции и измерения её количества с помощью спектрофотометрии.

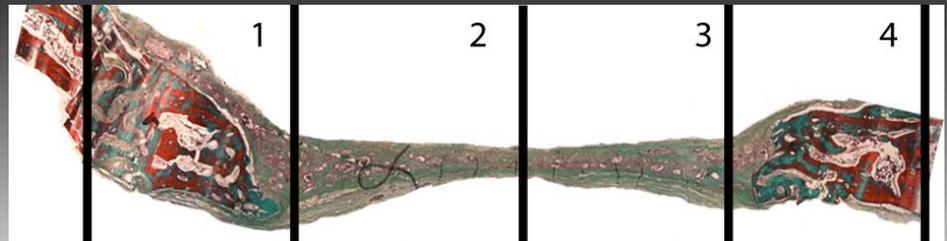


Кролики ($n=22$, 2,5-3,0 кг.), 15, 30, 60 сут. Симметричные дефекты (8 мм) обеих теменных костей, в один имплантировали целевой материал, в контрлатеральный – носитель без генов/ без имплантации :

Методы оценки:

-Конусная КТ

-Гистологический анализ



Результаты лабораторного этапа

Концентрация pVEGF₁₆₅, образовавших химическую связь с носителем:

1. Синтетический β -трикальцийфосфат российского производства – 2 нг/мг;
2. Ксеногенная костная ткань – 12– 44,9 нг/мг ;
3. Аллогенная костная ткань – 10 нг/мг
4. Различные варианты комбинированных материалов на основе гидроксиапатита, β -трикальцийфосфата и коллагена – 5 – 38 нг/мг
7. Синтетический материал на основе коллагена и гидроксиапатита – 625 мг/нг

Выбор: синтетический материал на основе коллагена и гидроксиапатита; ксеногенная костная ткань .

Результаты: 15 суток

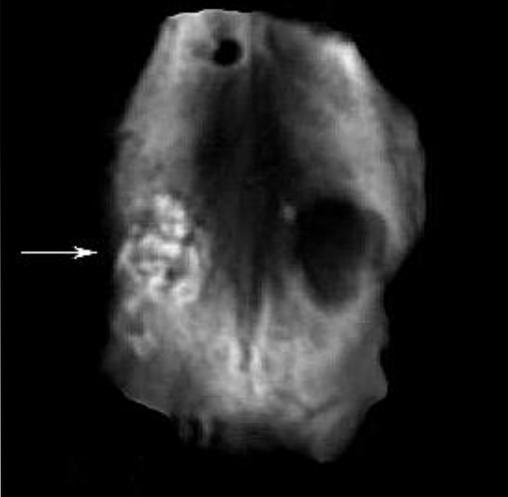
Синтетический материал с pVEGF₁₆₅



Контроль



Ксеногенный материал с pVEGF₁₆₅

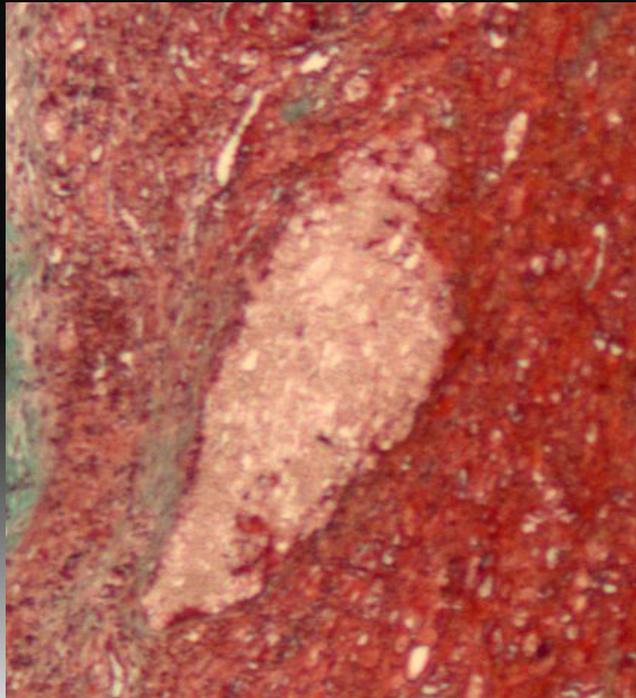
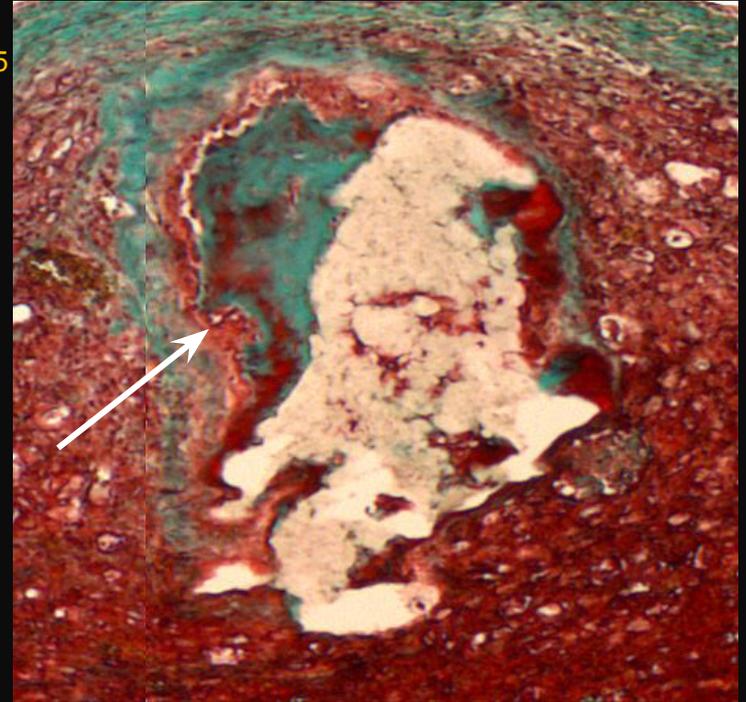
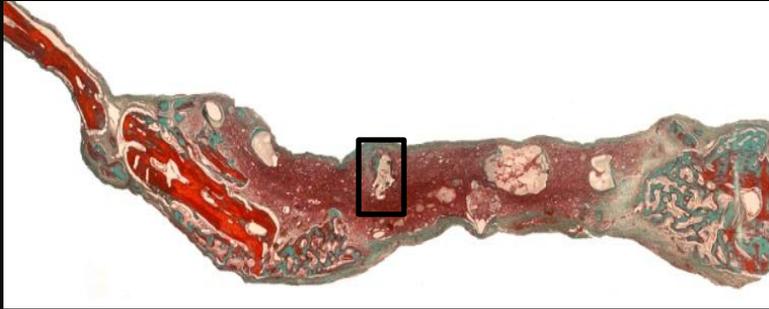


Дефект без имплантации



Результаты: гистологический анализ

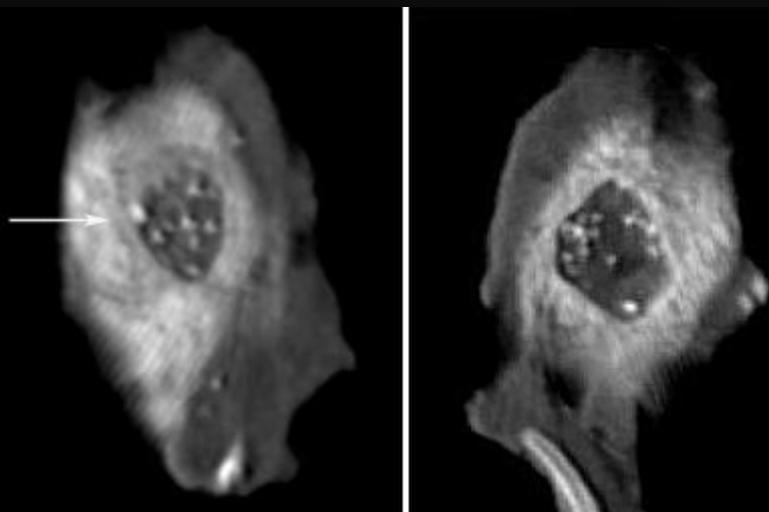
Синтетический материал с pVEGF₁₆₅



Синтетический материал без pVEGF₁₆₅



Результаты: 30 суток



Синтетический материал с pVEGF₁₆₅



Синтетический материал без pVEGF₁₆₅



Ксеногенный материал с pVEGF₁₆₅



Ксеногенный материал без pVEGF₁₆₅



Результаты эксперимента, 45 суток

Синтетический материал с pVEGF_{165}



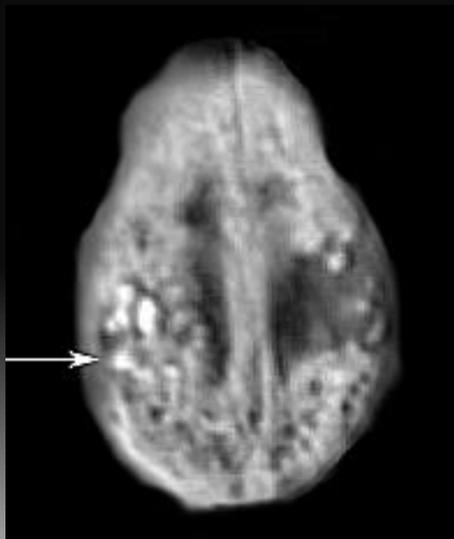
Синтетический материал без pVEGF_{165}



Ксеногенный материал с pVEGF_{165}



Ксеногенный материал без pVEGF_{165}



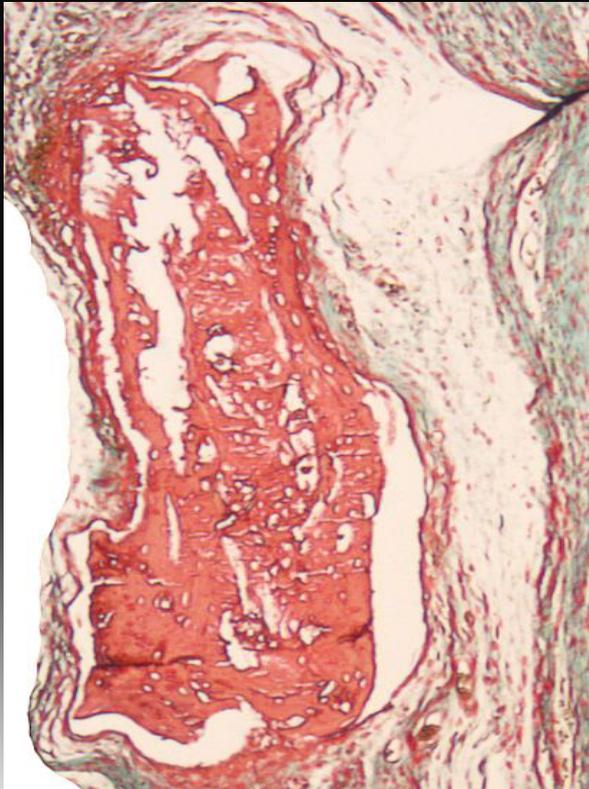
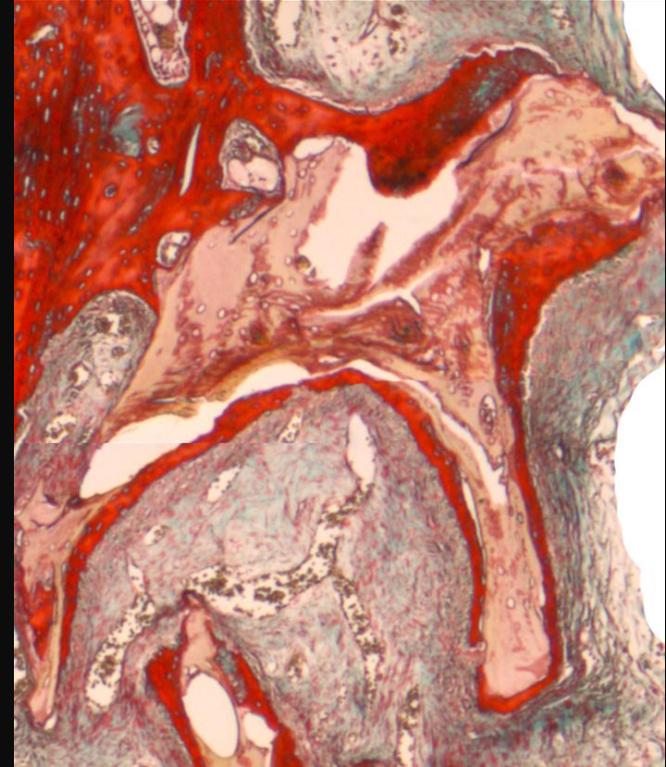
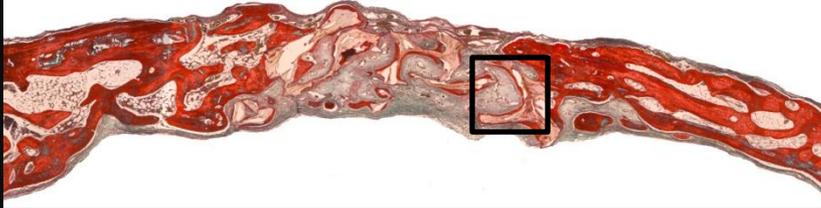
Результаты эксперимента, 45 суток

Синтетический материал с pVEGF₁₆₅

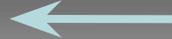


Результаты: гистологический анализ

Ксеногенный материал с pVEGF₁₆₅



Ксеногенный материал
без pVEGF₁₆₅

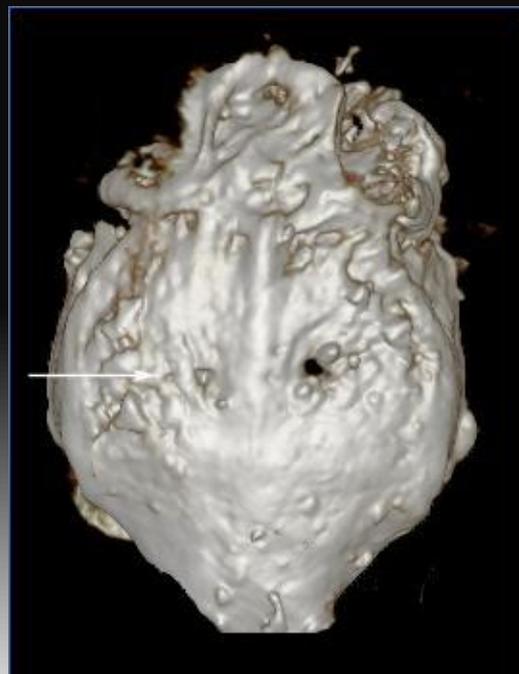
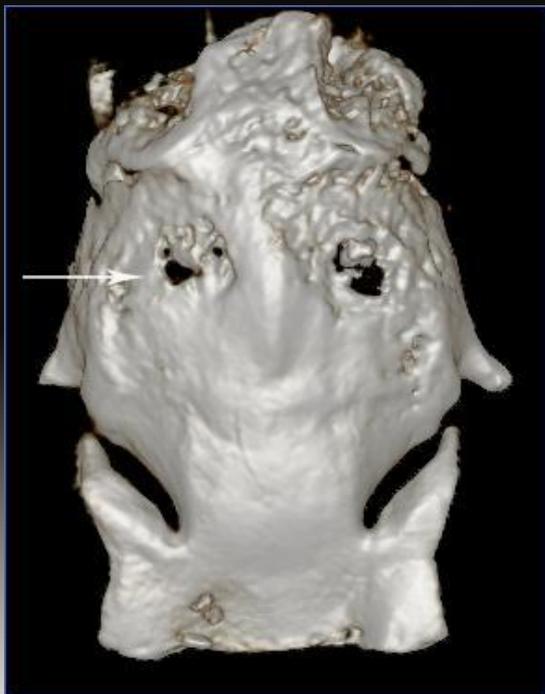


Результаты, 60 суток

Синтетический материал с ρVEGF_{165} / контроль



Ксеногенный материал с ρVEGF_{165} / контроль

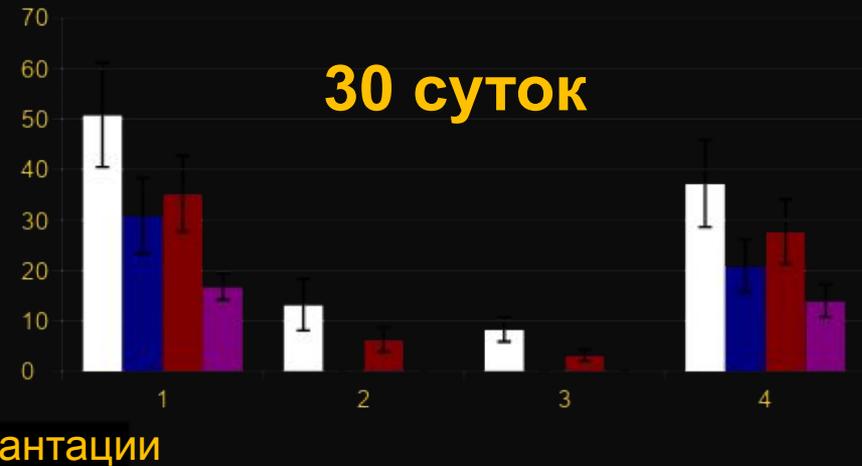


Результаты гистоморфометрии

15 суток

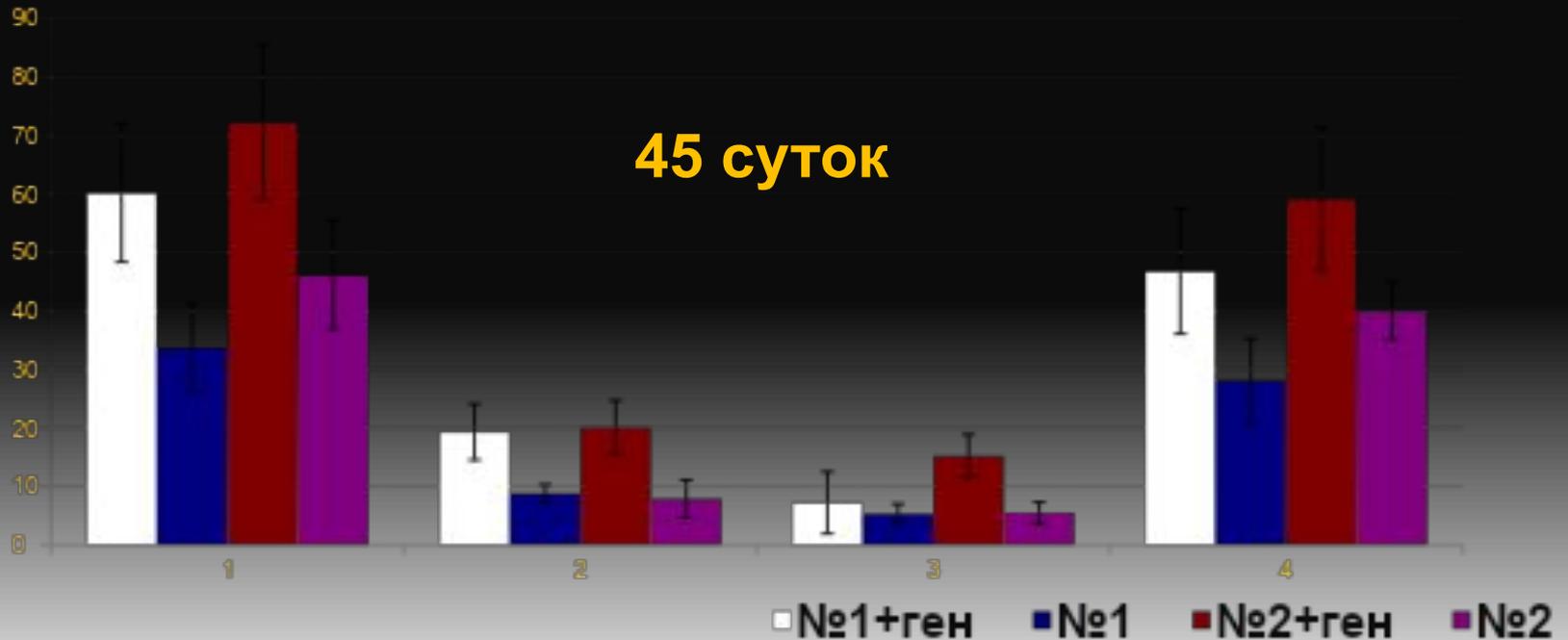


30 суток



Без имплантации

45 суток



Выводы:

Гипотеза о том, что генные конструкции в качестве активного компонента костнозамещающего материала способны усилить остеоиндуцирующий потенциал изделия, подтверждена.

Необходимо выполнение дальнейших исследований для более детального обоснования эффективности и механизма действия геннотерапевтического остеопластического материала



Спасибо за внимание!