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

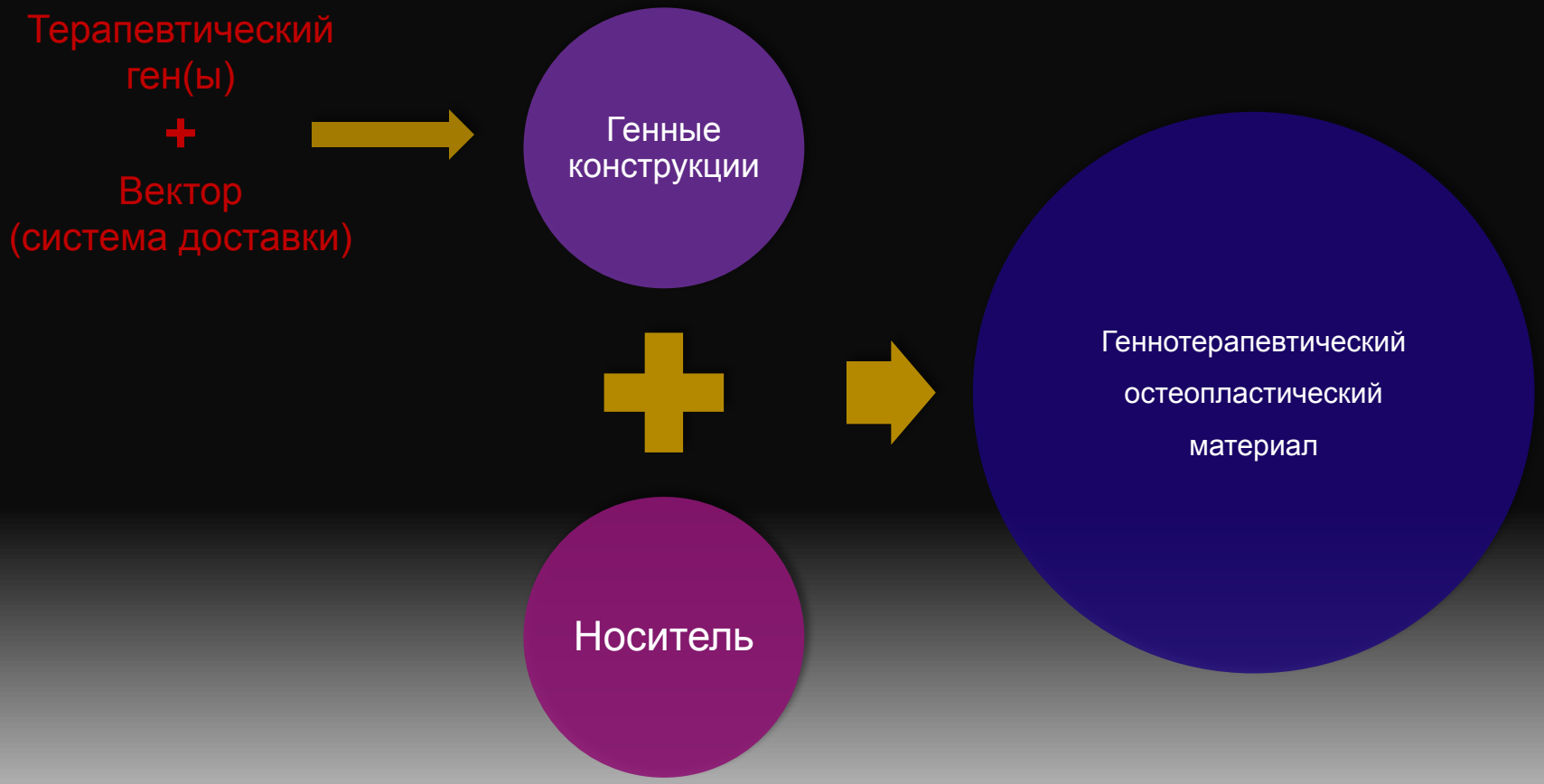
Геннотерапевтический остеопластический материал

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

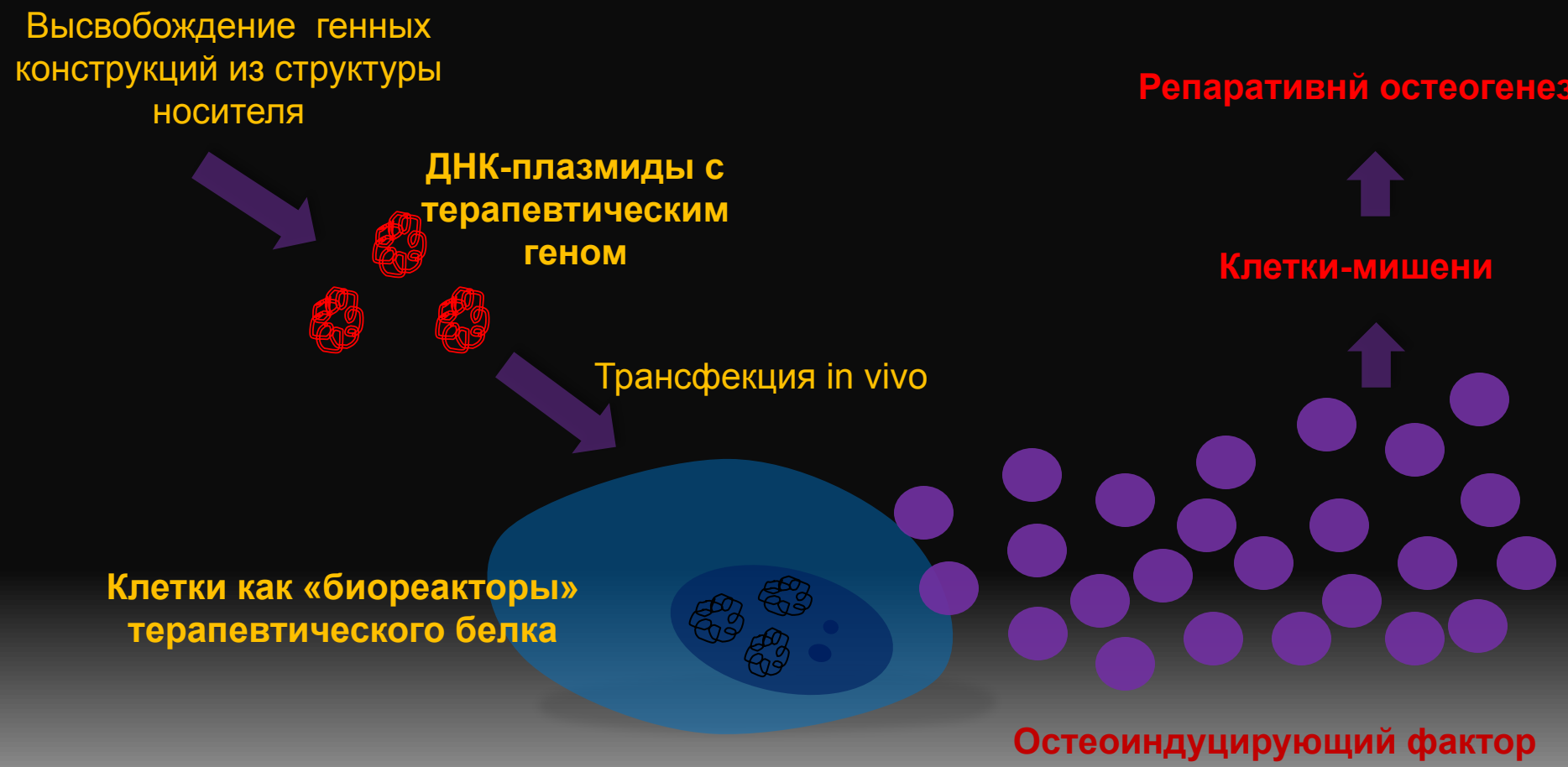
Москва-Уфа, 2012

Геннотерапевтический остеопластический материал

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



Механизм действия геннотерапевтического остеопластического материала



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

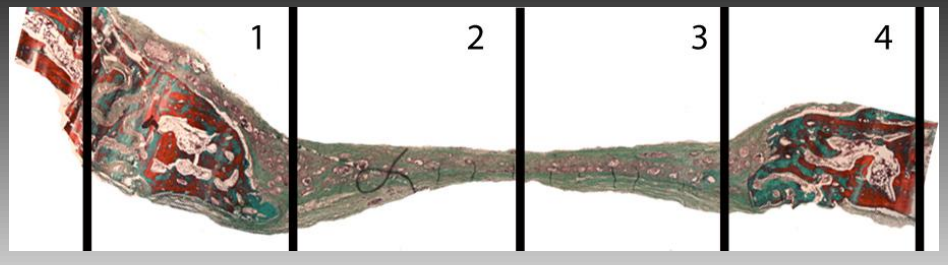
Материалы и методы

1. Генные конструкции на основе субстанции «Камбиогенплазмид», представляющую собой сверхскрученную плазмидную ДНК с геном сосудистого эндотелиального фактороа 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



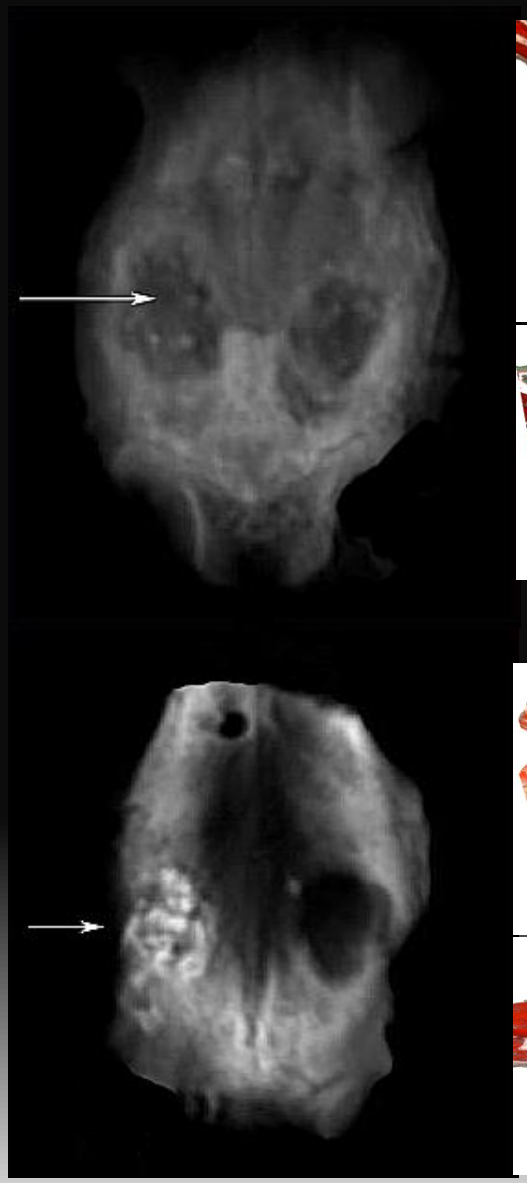
Результаты лабораторного этапа

Концентрация $pVEGF_{165}$, 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 .

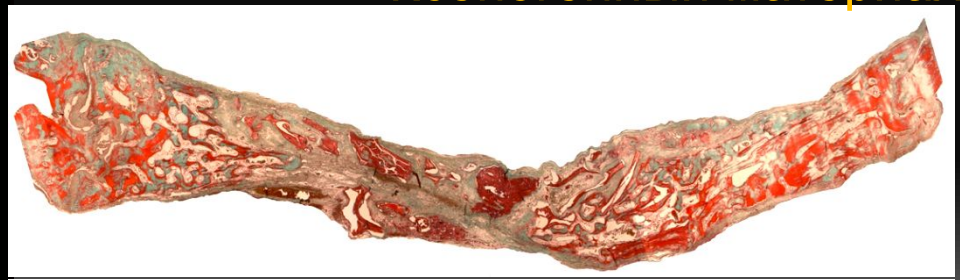
Результаты: 15 суток



Синтетический материал с **pVEGF$_{165}$**

Контроль

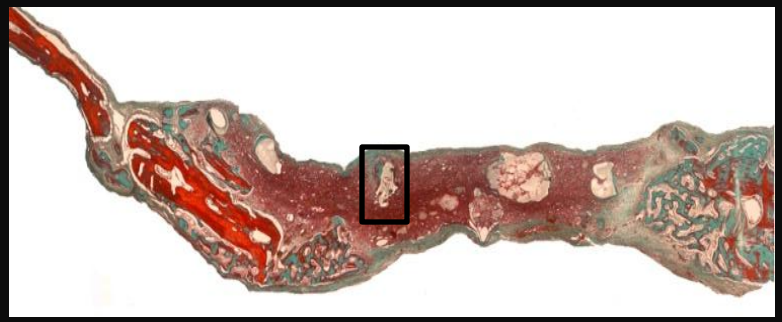
Ксеногенный материал с **pVEGF$_{165}$**

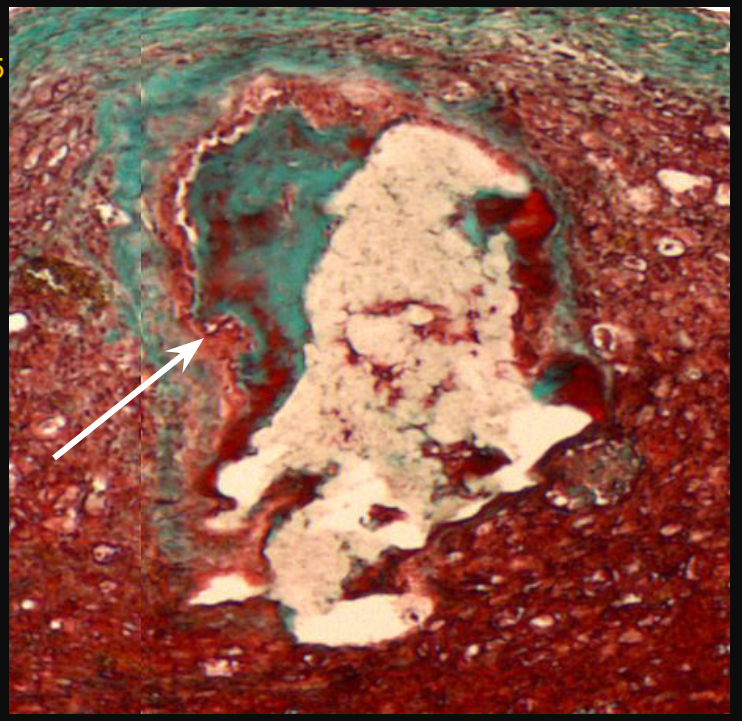


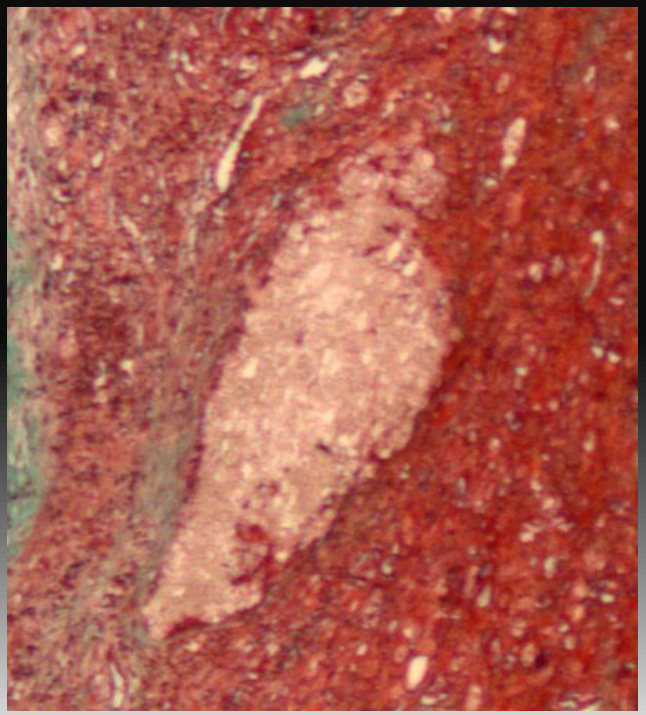
Дефект без имплантации

Результаты: гистологический анализ

Синтетический материал с $pVEGF_{165}$

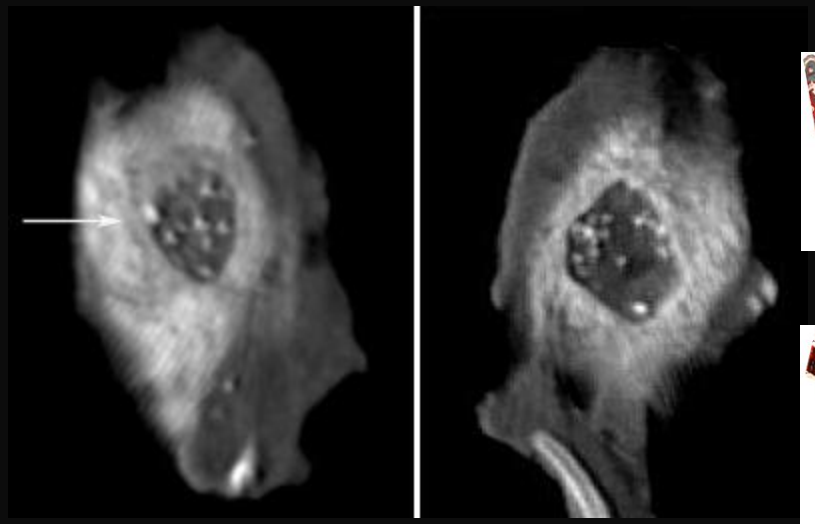




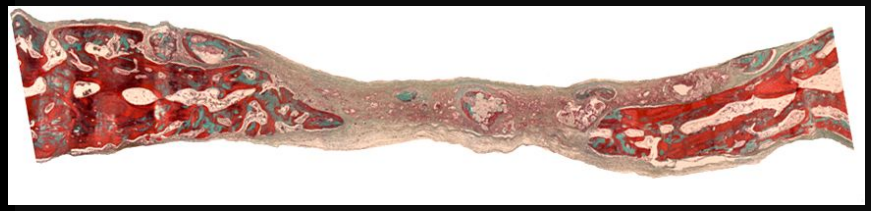


Синтетический материал без $pVEGF_{165}$

Результаты: 30 суток

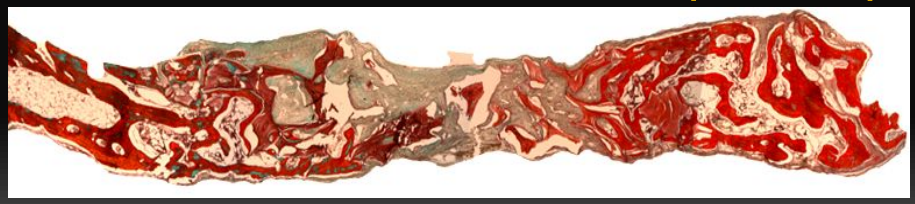


Синтетический материал с pVEGF$_{165}$



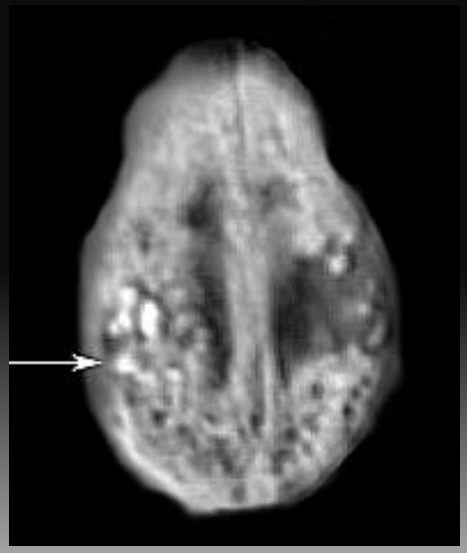
Синтетический материал без pVEGF$_{165}$

Ксеногенный материал с pVEGF$_{165}$



Ксеногенный материал без pVEGF$_{165}$

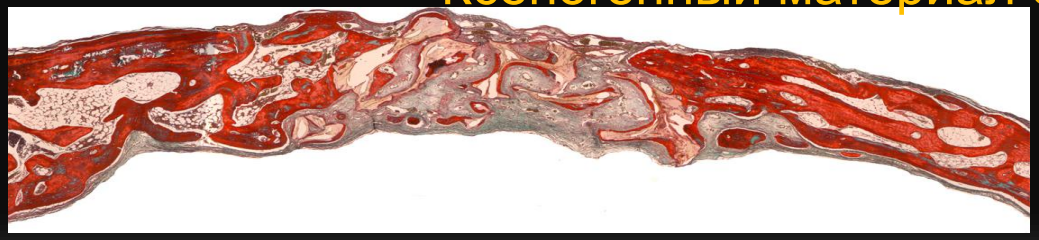
Результаты эксперимента, 45 суток



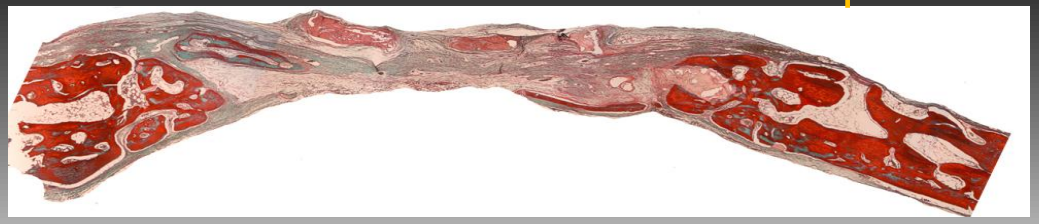
Синтетический материал с $pVEGF_{165}$

Синтетический материал без $pVEGF_{165}$

Ксеногенный материал с $pVEGF_{165}$

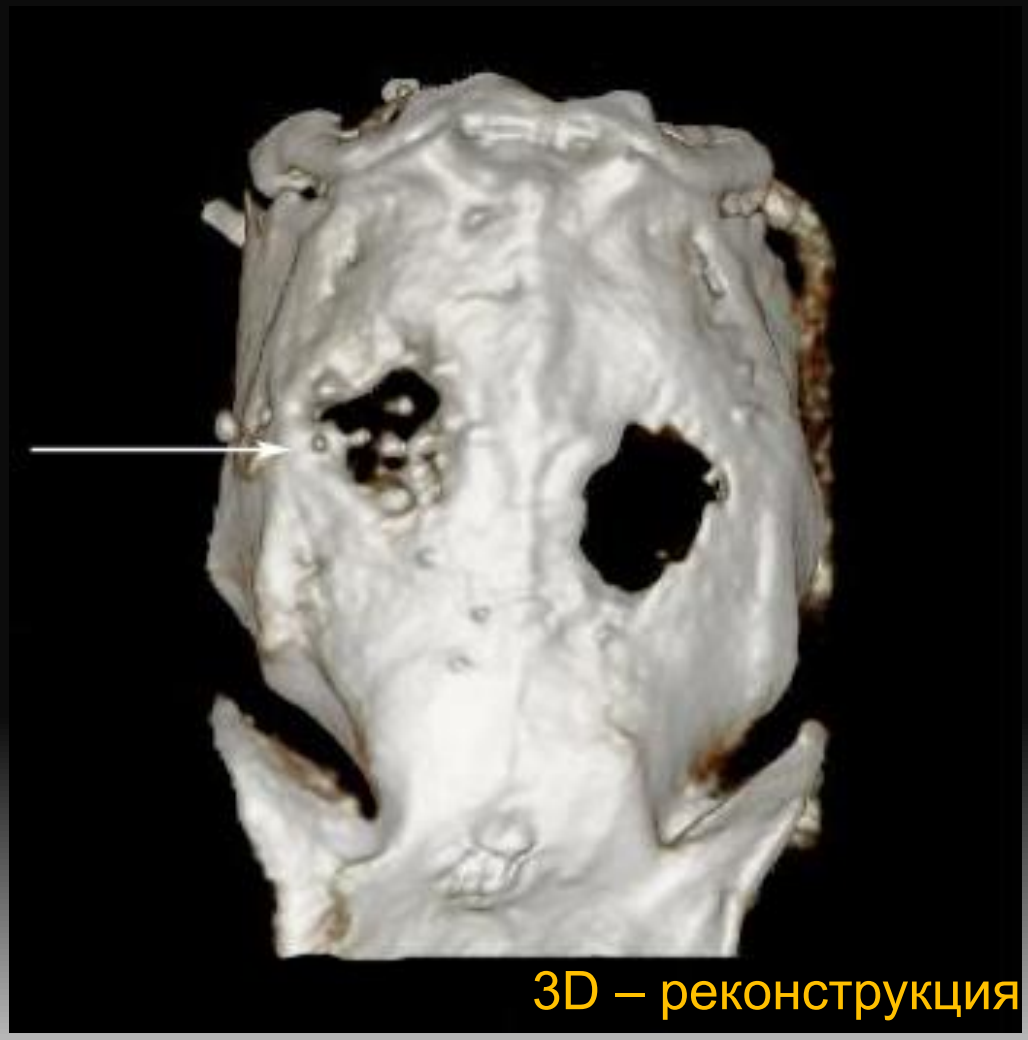


Ксеногенный материал без $pVEGF_{165}$



Результаты эксперимента, 45 суток

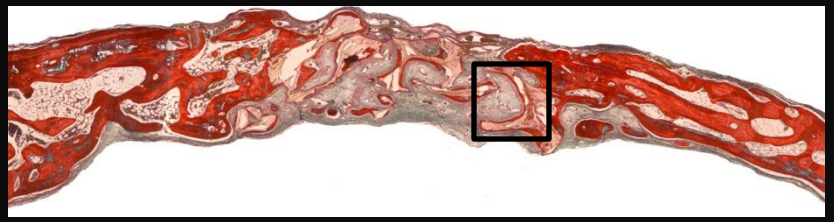
Синтетический материал с $pVEGF_{165}$

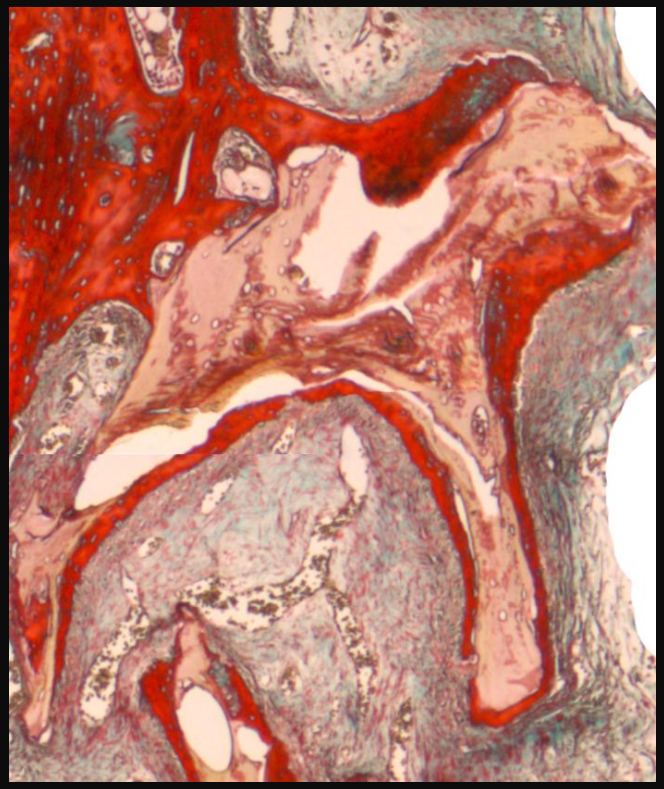


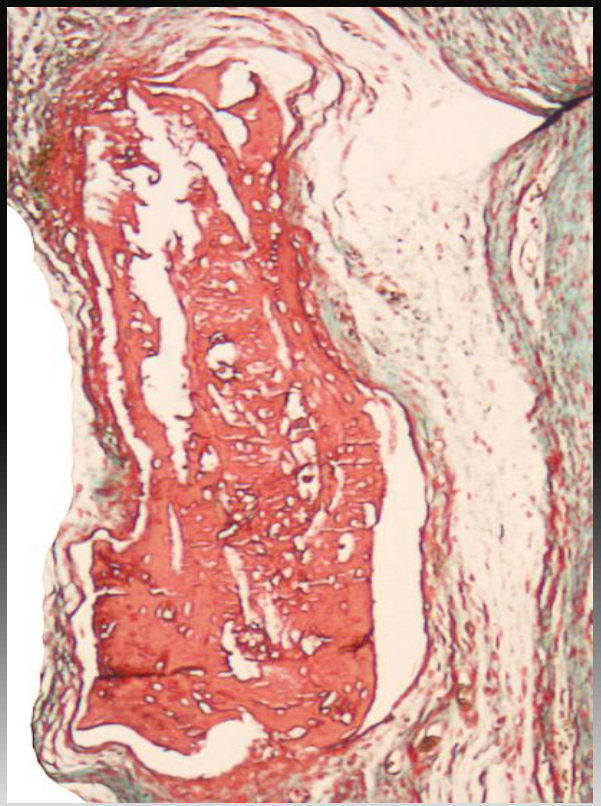
3D – реконструкция

Результаты: гистологический анализ

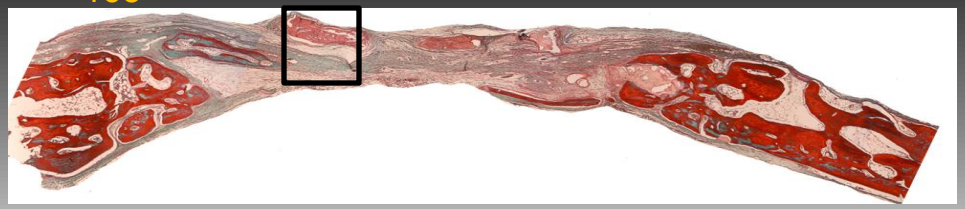
Ксеногенный материал с pVEGF$_{165}$





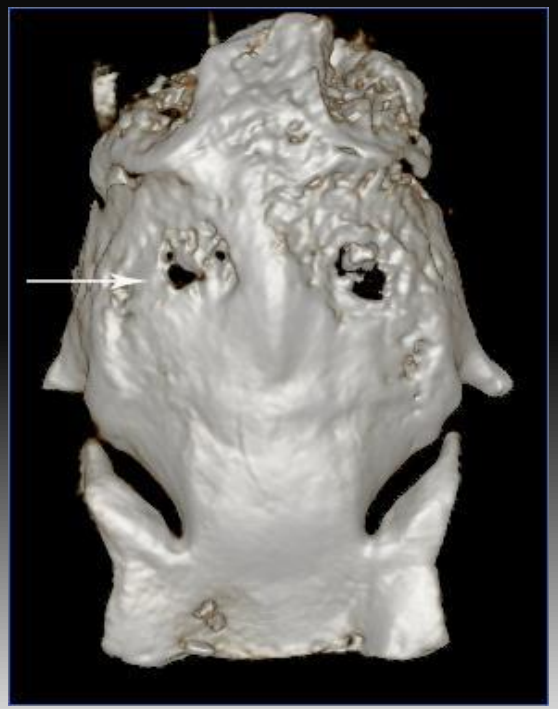


Ксеногенный материал
без pVEGF$_{165}$

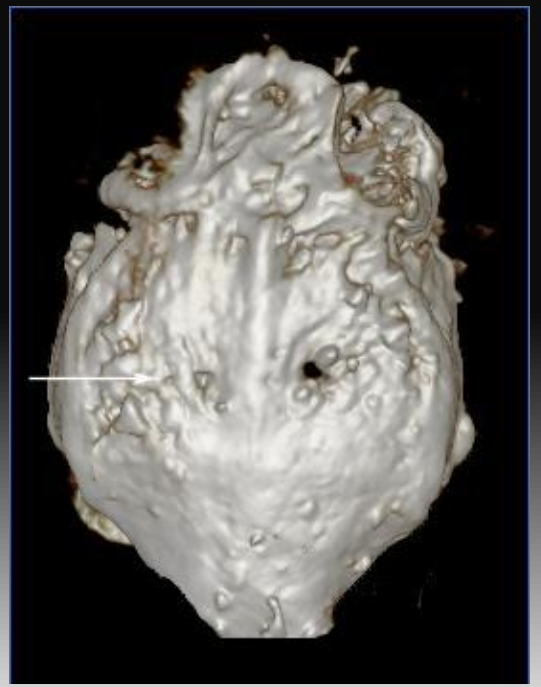


Результаты, 60 суток

Синтетический материал с $pVEGF_{165}$/ контроль

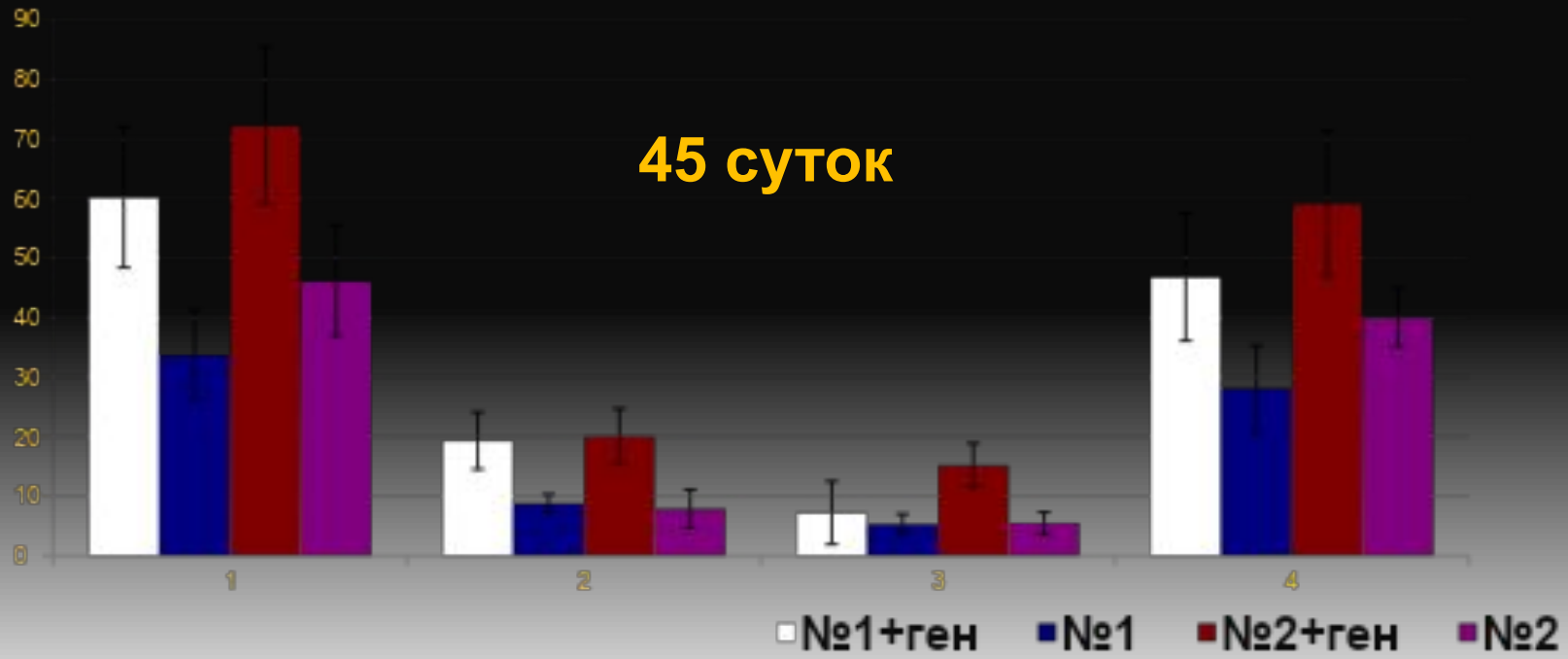


Ксеногенный материал с $pVEGF_{165}$/ контроль



Результаты гистоморфометрии

Без имплантации



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!