

Биополимерный материал на основе амниотической мембраны для применения в офтальмологии

Милюдин Евгений Сергеевич
ведущий научный сотрудник НИИ
Биотех СамГМУ

Кучук Ксения Евгеньевна
заведующая отделением заготовки
и консервации трупных тканей
СОКОБ имени Т.И.Ерошевского

III Международная (юбилейная) научно-практическая конференция

Актуальные вопросы регенеративной медицины:
клеточные и репродуктивные технологии, тканевая инженерия

22-26 июня 2023, Самара, Россия





Природный полимер - амниотическая мембрана



- Облегчает эпителизацию
- Сохраняет нормальный эпителиальный фенотип культивированных клеток
- Уменьшает воспаление в окружающих тканях
- Уменьшает образование рубцовой ткани
- Уменьшает васкуляризацию





Анатомическое строение, особенности тканевого состава и биологически активные вещества определяют возможность применения амниона при лечении различных патологических состояний

Морфологическая структура нативной амниотической оболочки Окраска гематоксилин-эозин, ув.400

Эпителий амниона – однослойный кубический, толщина эпителиального слоя равномерна и в среднем равна 13,65 мкм

Базальная мембрана выглядит как сеть ретикулярных волокон, толщина ее не более 2 мкм

Компактный слой состоит из переплетающихся, тесно расположенных ретикулярных волокон. По высоте в 1- 1,5 раза больше чем эпителиальный, в среднем толщина слоя 29,06 мкм

Слой фибробластов состоит из клеток, располагающихся в два слоя в густой сети коллагеновых, ретикулярных волокон и межклеточного вещества. Толщина слоя практически аналогична толщине компактного слоя и в среднем равна 29,88 мкм

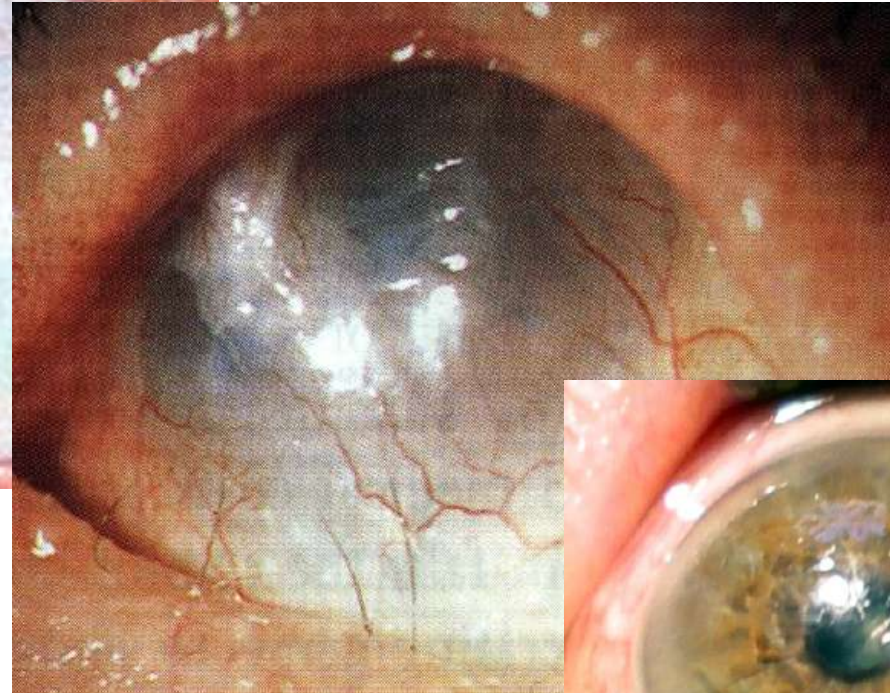
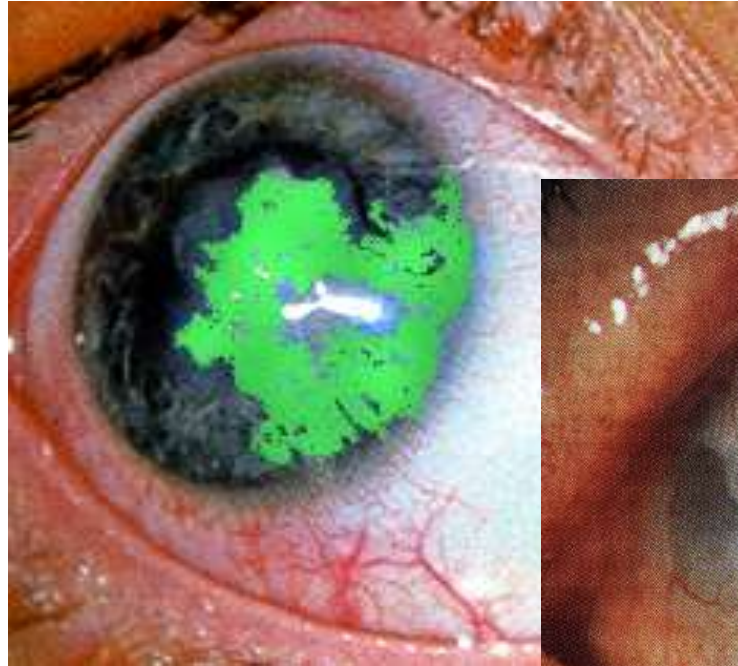
Спонгиозный слой построен из ретикулярных волокон, между петлями которых накапливается жидкость. Толщина слоя в среднем равна 41,07 мкм





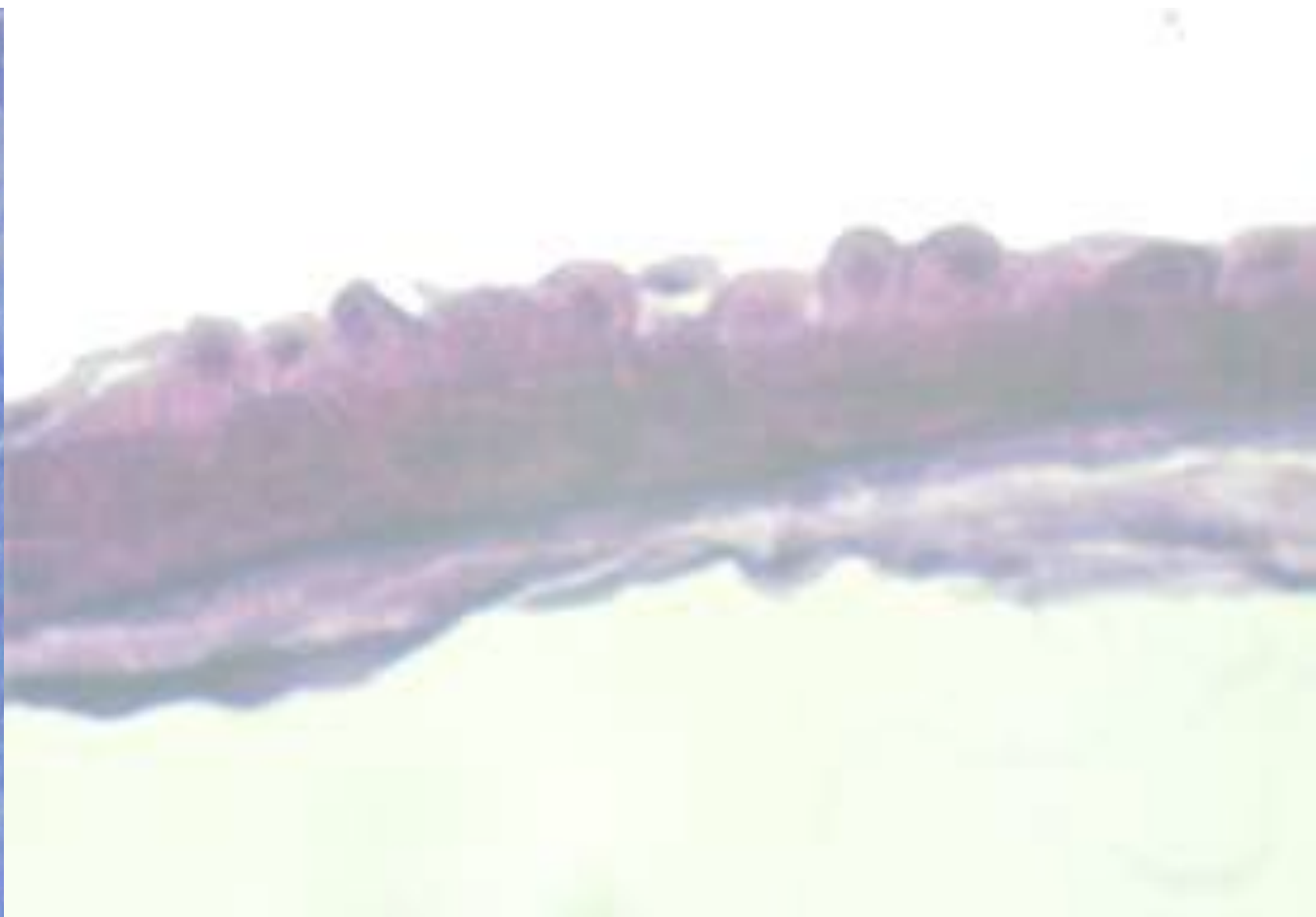
Актуальность для клиники

- Рецидивирующие эпителиальные дефекты
- Химические и термические ожоги глаза
- Травматические эрозии
- Птеригиум





Скаффолд для культивированных клеток





Главные принципы консервации

- Сохранение биологической активности
- Безопасность
- Удобство хранения и применения

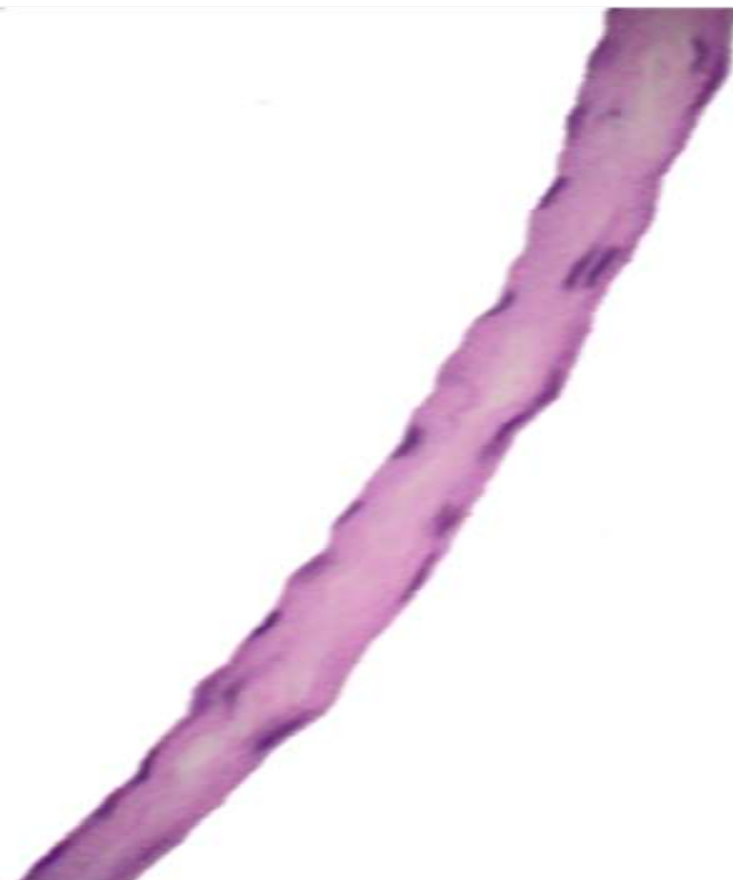




Высушивание амниотической мембраны над силикагелем



Силиковысушенная пластифицированная
глицеролом амниотическая мембрана



Окраска гематоксилин-эозином. Ув.Х400.





Децеллюляризация физическими методами



- Децеллюляризация амниотической мембраны осуществлялась физическим методом, воздействием на биоматериал низкочастотным ультразвуком при частоте 24-40 кГц в ультразвуковой ванне «Сапфир» ТТК (ООО «Сапфир», Москва, Россия)





Окраска гематоксилин-эозином. Ув.Х400.



Лиофилизированная амниотическая мембрана после обработки ультразвуком и глицеролом



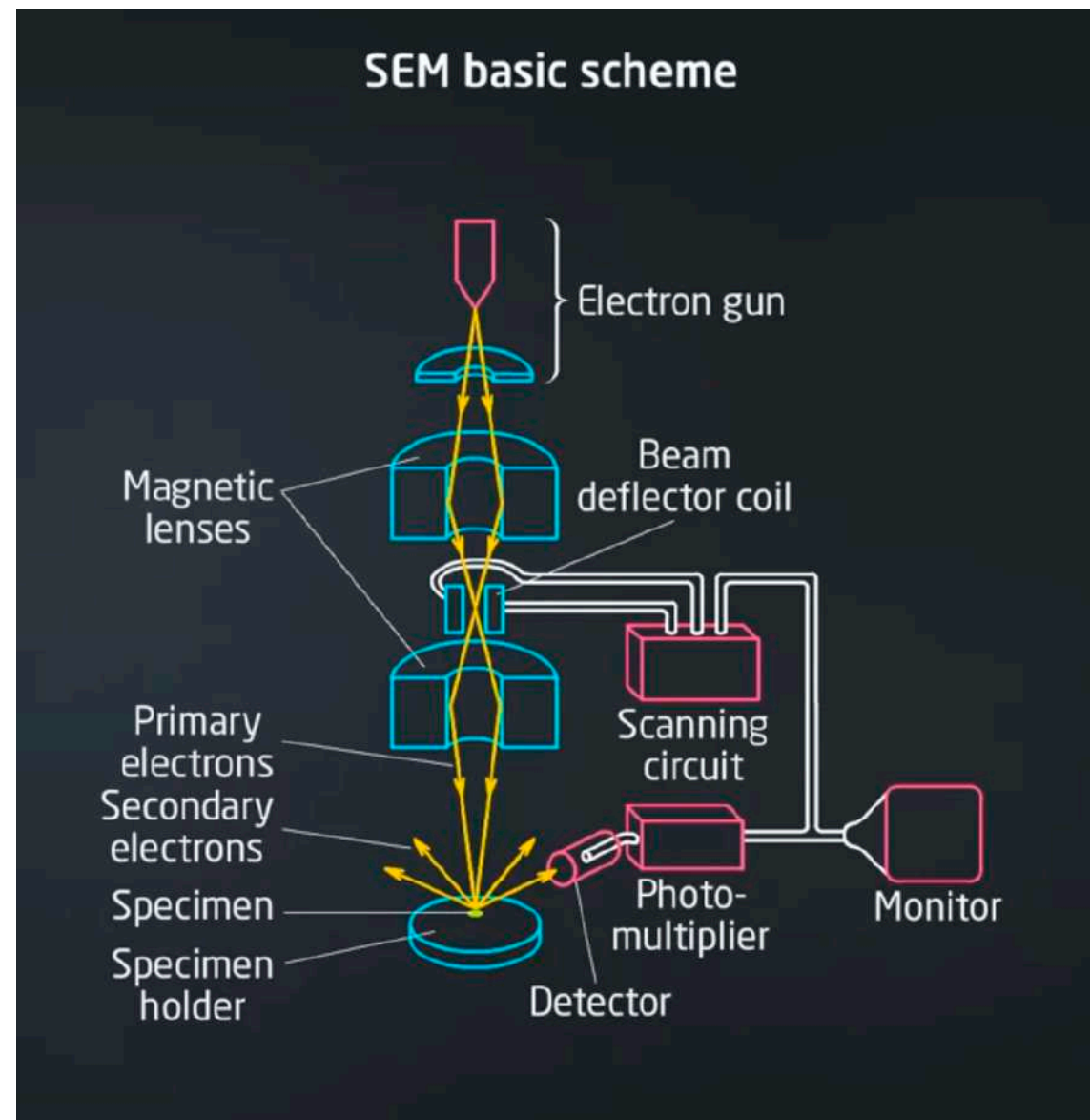
Лиофилизированная амниотическая мембрана после обработки ультразвуком без глицерола





Сканирующая электронная микроскопия

Сканирующая электронная микроскопия амниотической мембраны после консервации выполнена с использованием растрового электронного микроскопа JEOLJSM-6390 A Analysis Station (Япония)

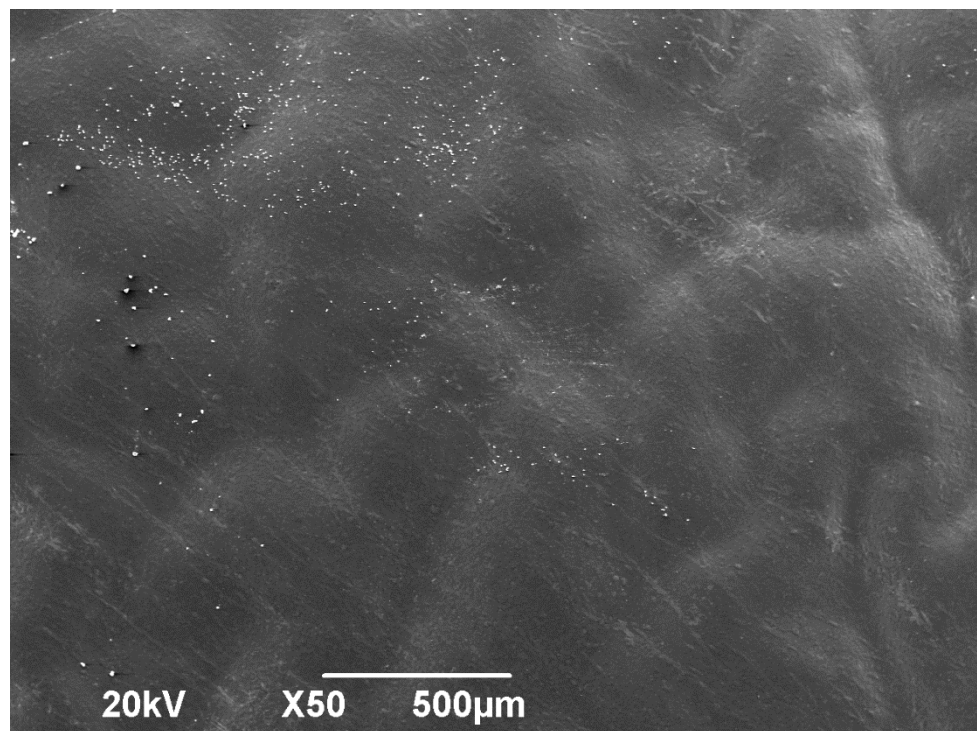
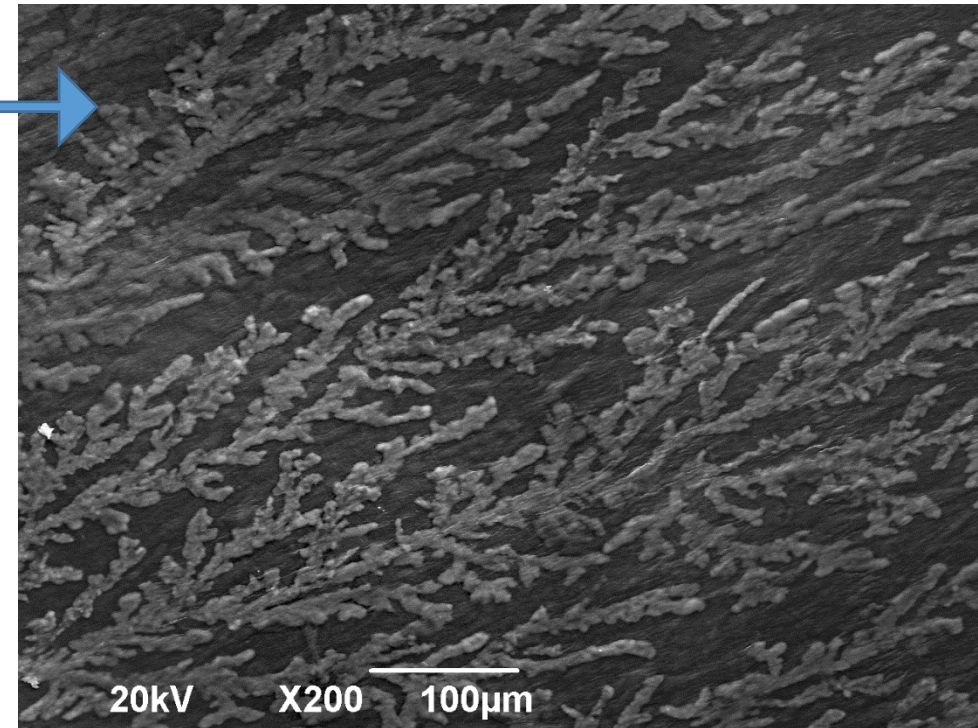




Спонгиозный слой

Эпителиальная поверхность

Силиковысушенная
пластифицированная
глицеролом
амниотическая мембрана

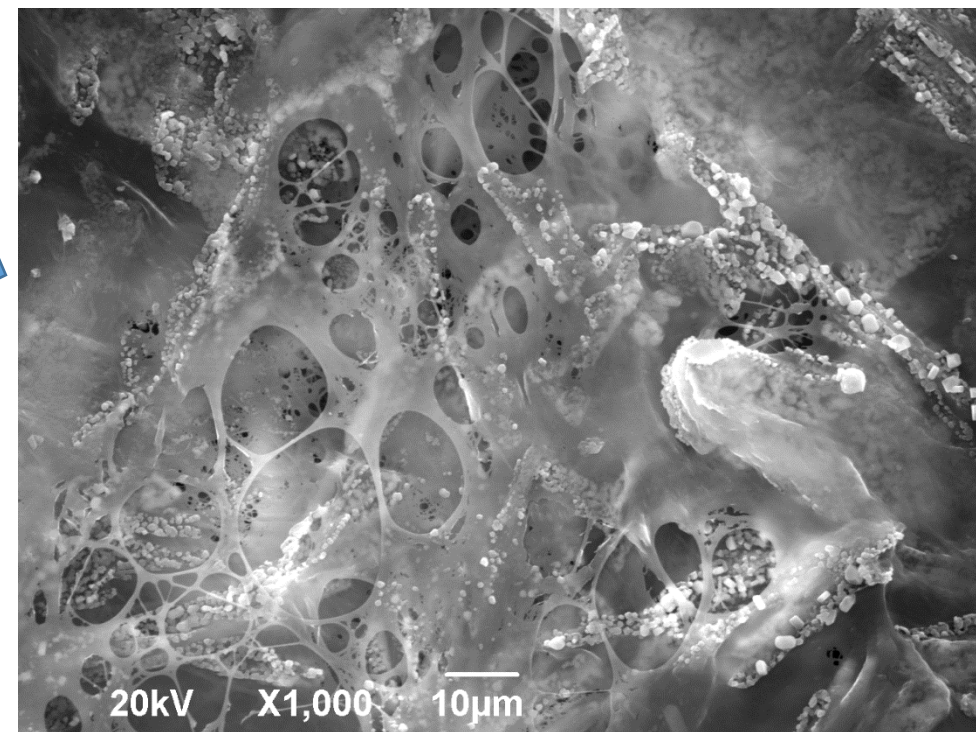
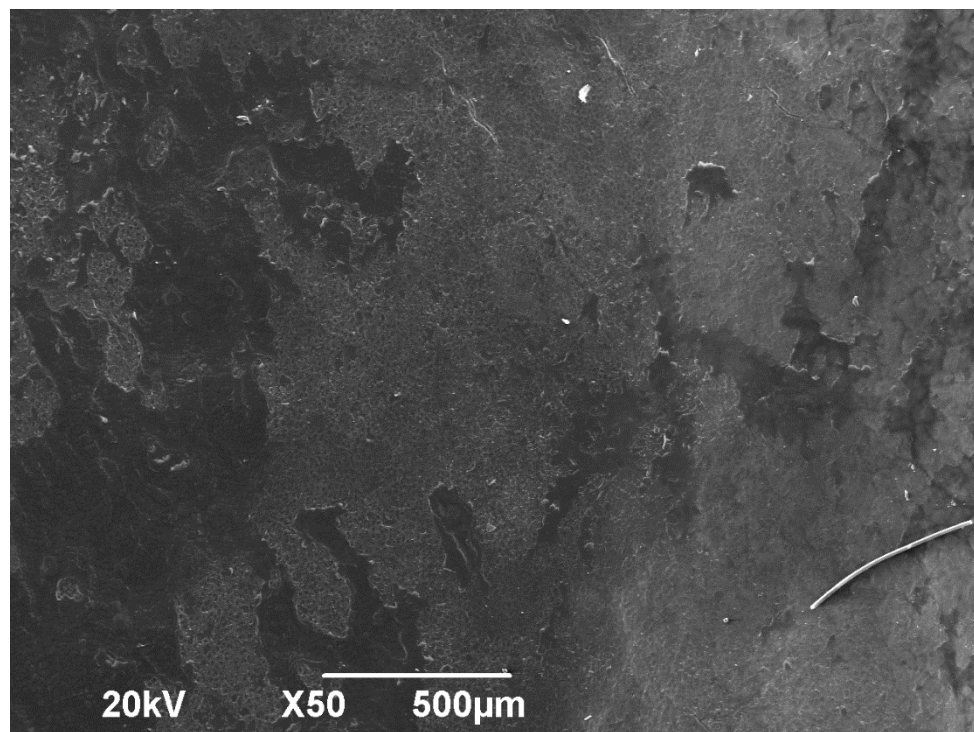




Лиофилизированная амниотическая мембрана после обработки ультразвуком и глицеролом

Спонгиозный слой

Эпителиальная поверхность

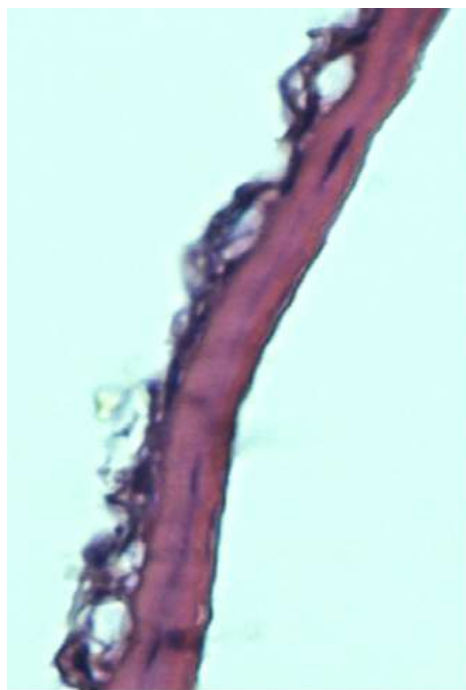
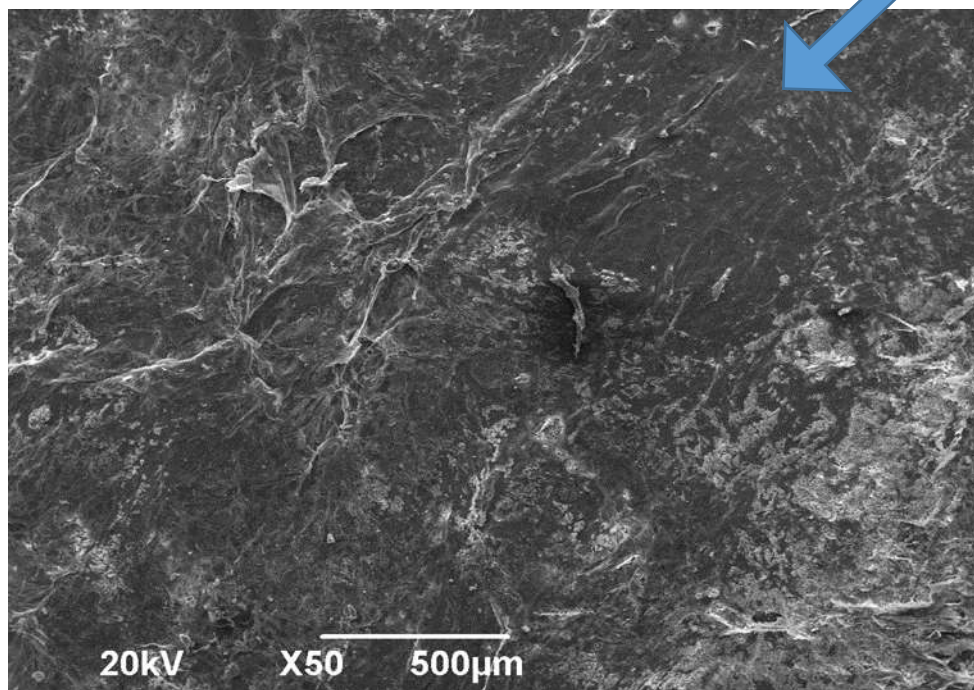
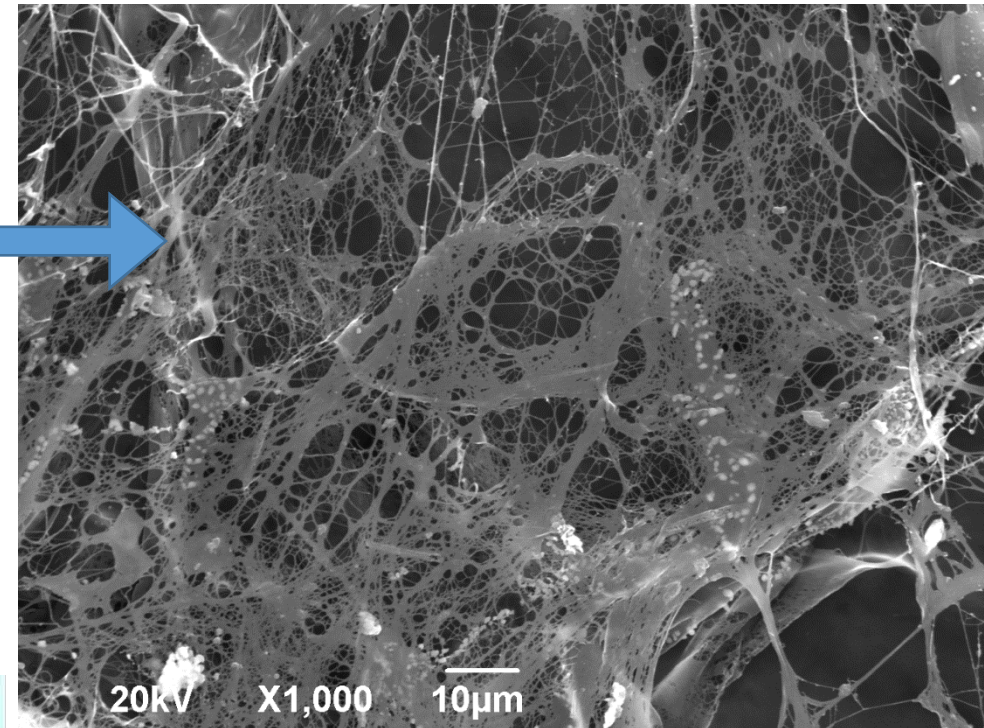




Спонгиозный слой

**Эпителиальная
поверхность**

Лиофилизированная
амниотическая мембрана
после обработки
ультразвуком
без глицерола

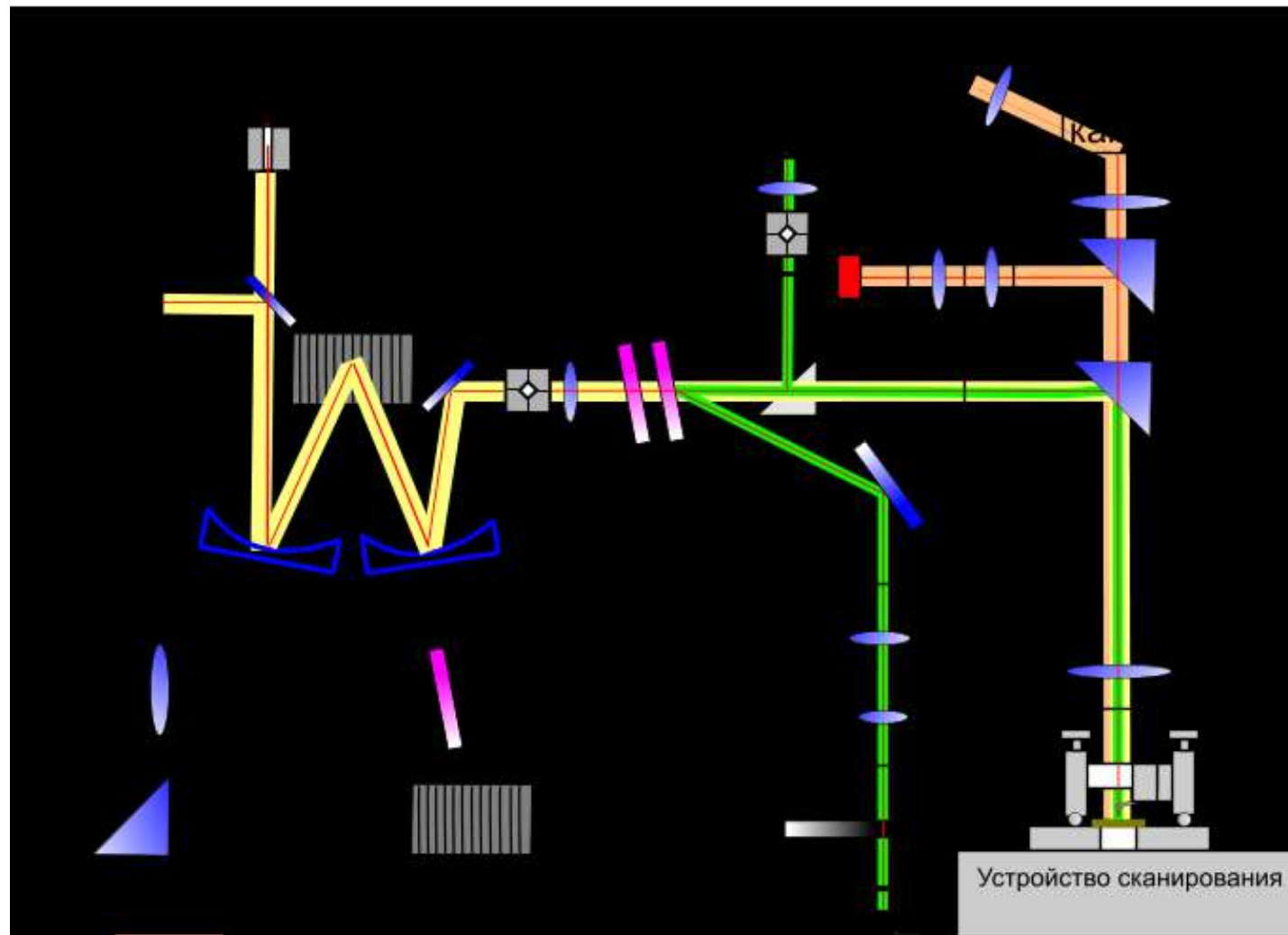




Рамановская спектроскопия

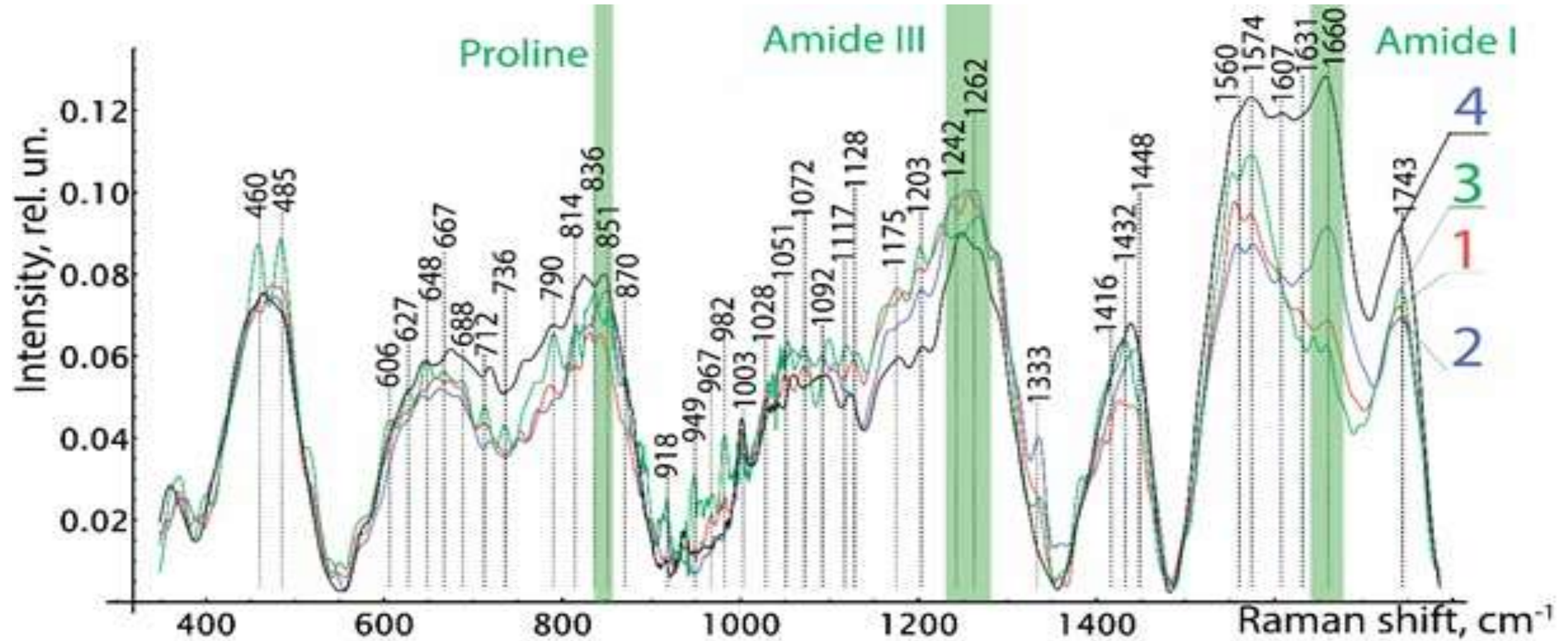
Спектральные характеристики консервированных образцов амниотической мембраны человека изучали с использованием экспериментальной установки

При этом не повреждали изучаемый образец





Усредненные спектры КР исследуемых образцов амниотической мембраны





Культура дермальных фибробластов высеянная на поверхность обработанной УЗ и глицеролом лиофилизированной амниотической мембраны

Посевная доза **20 тыс./см²**

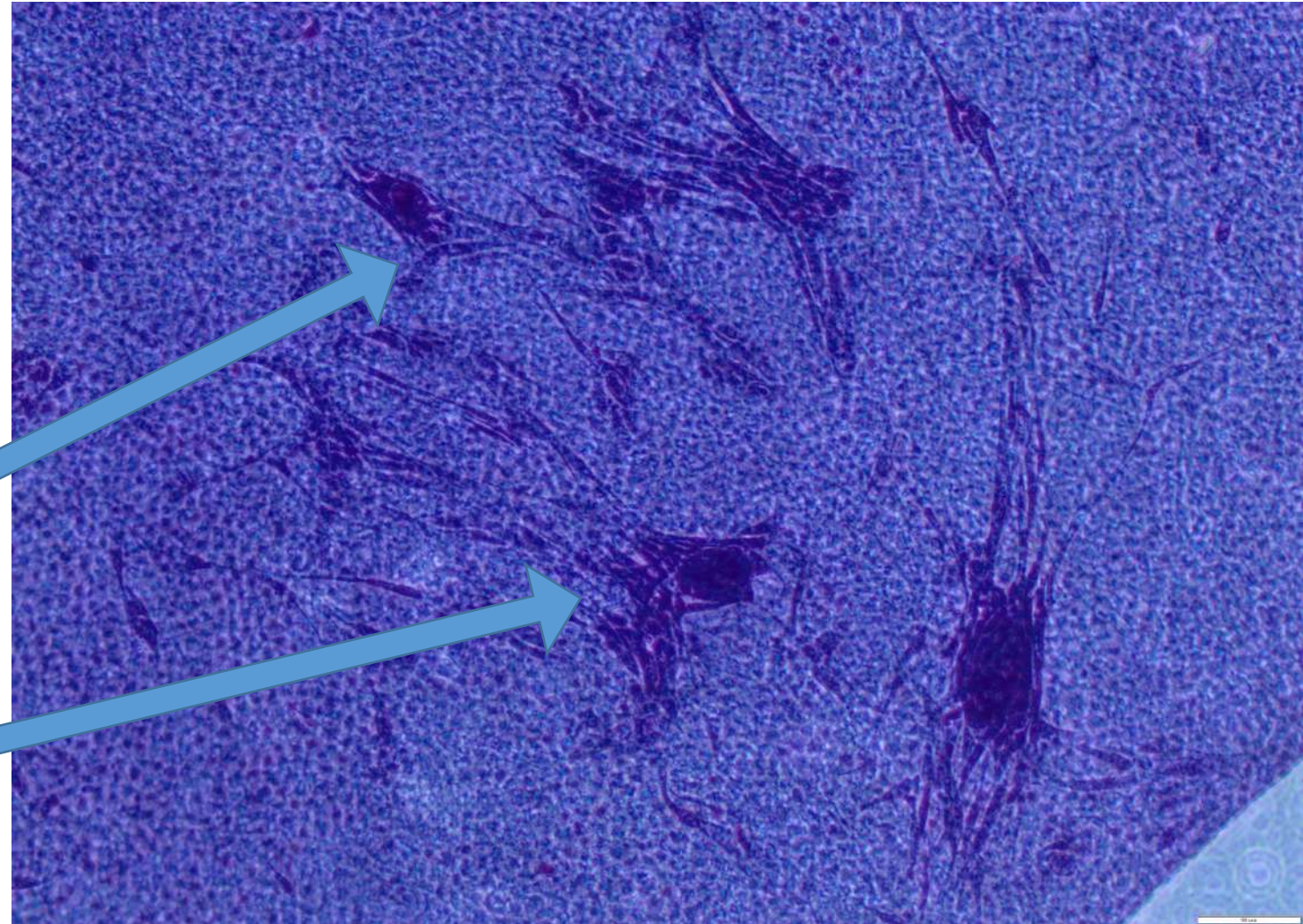
Инкубация - 4 суток после посева

Окраска Судан IV и гематоксилин.

Увеличение x100

Фибробласты на эпителиальной поверхности амниона – сохраняется жизнеспособность, нет митотической активности

Фибробласты в состоянии апоптоза





Культура дермальных фибробластов высеянная на поверхность обработанной УЗ и глицеролом лиофилизированной амниотической мембраны

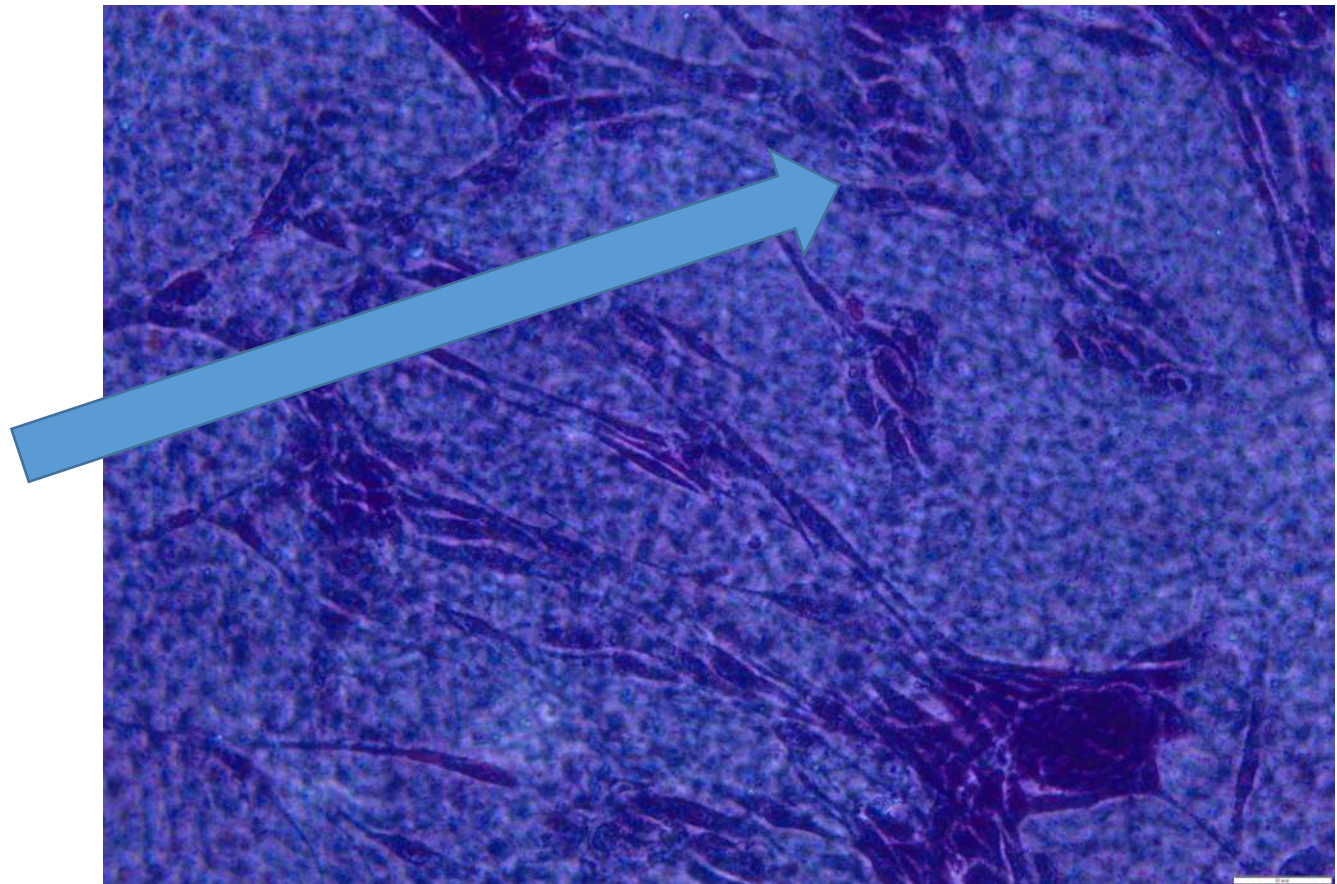
Посевная доза **20 тыс./см²**

Инкубация - 4 суток после посева

Окраска Судан IV и гематоксилин.

увеличение x100

**Фибробласты на
эпителиальной поверхности
амниона – сохраняют
жизнеспособность,
митотическую активность**





Выводы

- **Разработанная технология обработки и консервации амниотической мембраны позволяет сохранить основные свойства нативного амниона**
- **Гарантировать вирусную и бактериальную безопасность**
- **Длительно хранится в обычных условиях**





Использование биополимера при лечении ожогов глаза

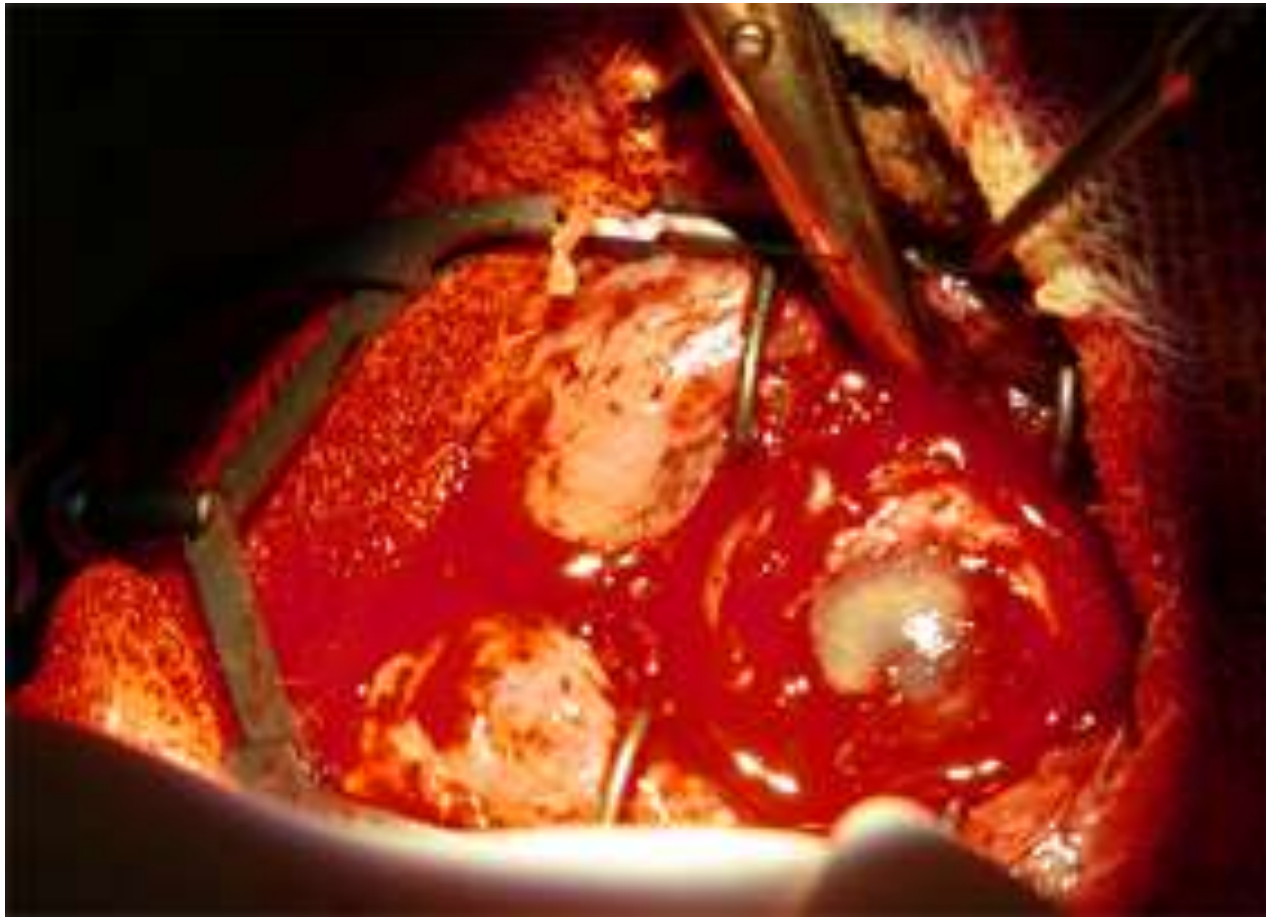


- **Состояние перед ПХО**
- Удаление некротических масс на поверхности роговицы
- Фиксация биоматериала на поверхности роговицы
- Фиксация биоматериала в сводах
- Через семь дней после ПХО
- Через год после ожога





Использование биополимера при лечении ожогов глаза

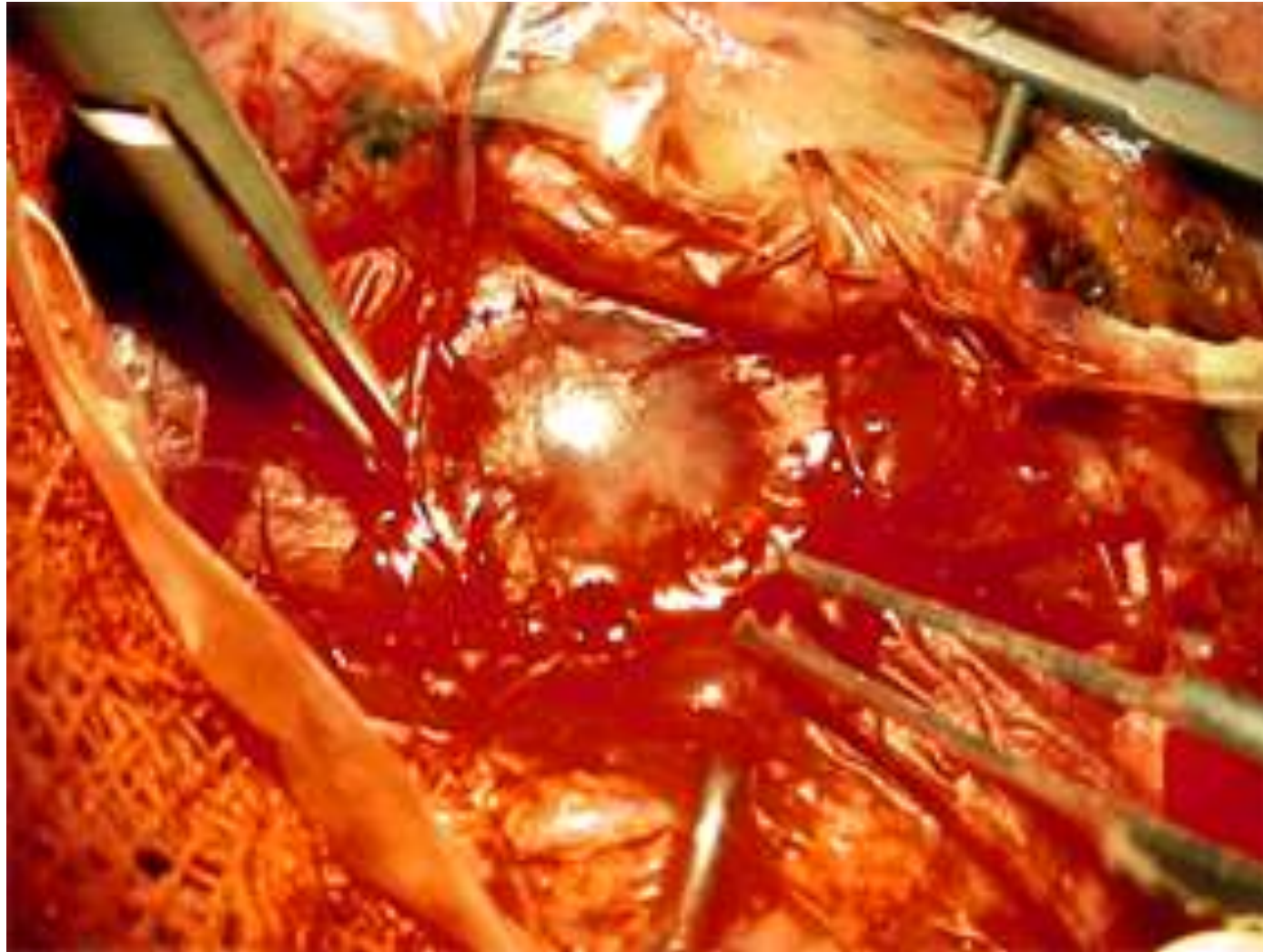


- Состояние перед ПХО
- **Удаление некротических масс на поверхности роговицы**
- Фиксация биоматериала на поверхности роговицы
- Фиксация биоматериала в сводах
- Через семь дней после ПХО
- Через год после ожога





Использование биополимера при лечении ожогов глаза



- Состояние перед ПХО
- Удаление некротических масс на поверхности роговицы
- **Фиксация биоматериала на поверхности роговицы**
- Фиксация биоматериала в сводах
- Через семь дней после ПХО
- Через год после ожога





Использование биополимера при лечении ожогов глаза



- Состояние перед ПХО
- Удаление некротических масс на поверхности роговицы
- Фиксация биоматериала на поверхности роговицы
- **Фиксация биоматериала в сводах**
- Через семь дней после ПХО
- Через год после ожога





Использование биополимера при лечении ожогов глаза

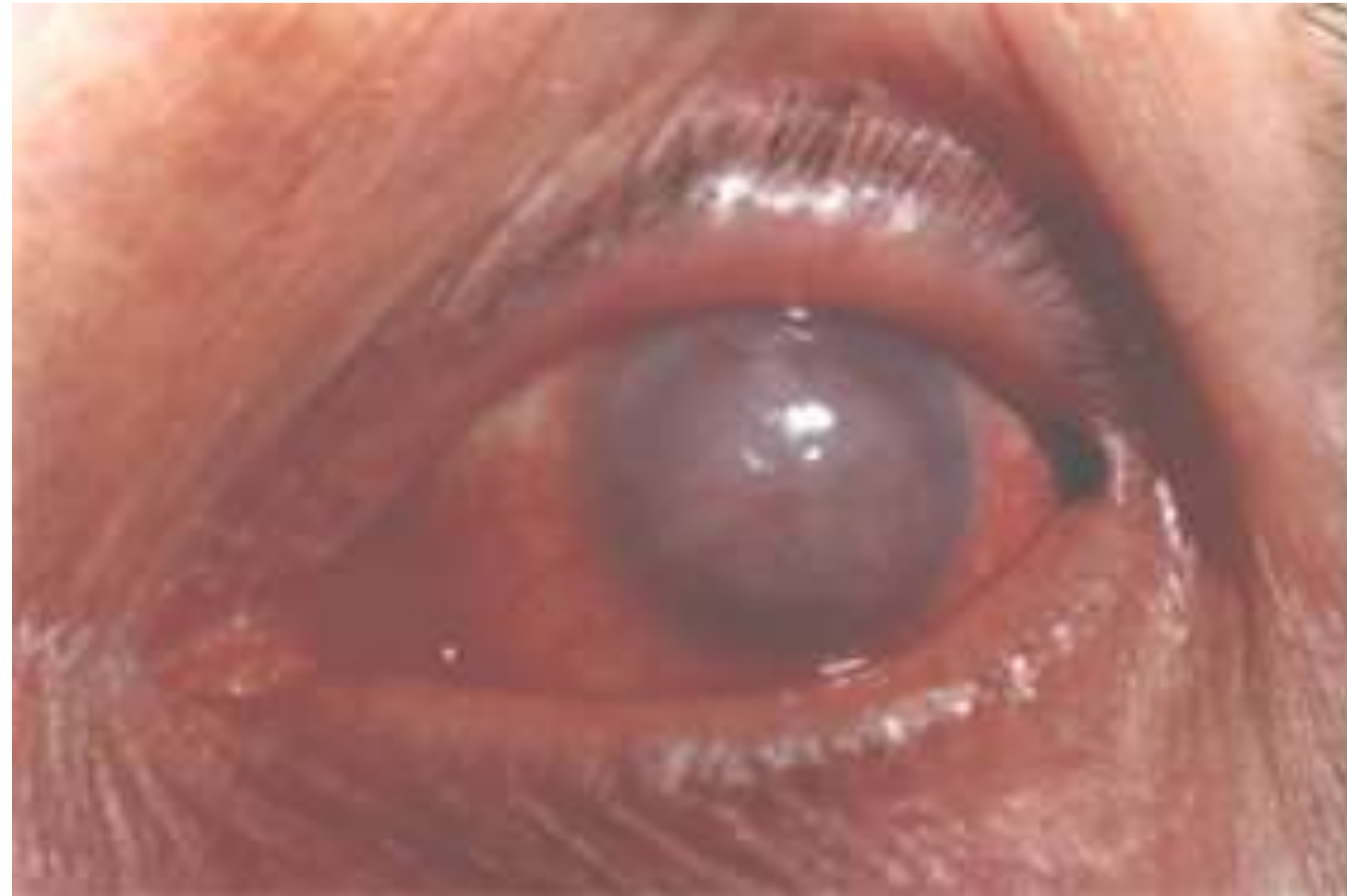


- Состояние перед ПХО
- Удаление некротических масс на поверхности роговицы
- Фиксация биоматериала на поверхности роговицы
- Фиксация биоматериала в сводах
- **Через семь дней после ПХО**
- Через год после ожога





Использование биополимера при лечении ожогов глаза



- Состояние перед ПХО
- Удаление некротических масс на поверхности роговицы
- Фиксация биоматериала на поверхности роговицы
- Фиксация биоматериала в сводах
- Через семь дней после ПХО
- **Через год после ожога**





Спасибо за внимание!

