Оригинальная статья / Original article
DOI: https://doi.org/10.38025/2078-1962-2025-24-5-66-72

Применение цитрата натрия для модификации биофункциональных свойств коллагенового гидрогеля: результаты экспериментального исследования

Марков П.А.*, **Марченкова Л.А.**

Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии Минздрава России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Быстрая деструкция материалов и конструкций, потеря ими механической прочности, деформация архитектуры и формы — факторы, ограничивающие применение коллагеновых биоматериалов в регенеративной медицине и тканевой инженерии. Одним из способов повышения прочности и устойчивости гидрогелевых биоматериалов к биодеградации является введение в их состав дополнительных химических сшивок, например, трикарбоновых кислот (лимонная кислота). Однако использование кислот может провоцировать гибель клеток, контактирующих с гидрогелевым биоматериалом, что и было подтверждено ранее. Возможным решением проблемы может стать замена лимонной кислоты на ее соль — цитрат натрия (ЦН).

ЦЕЛЬ. Оценить влияние ЦН на структурно-механические свойства коллагенового гидрогеля и его биосовместимость с фибробластами кожи человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В работе использованы следующие реактивы и материалы: денатурированный коллаген I типа компании First Alive Collagen (Россия), 80 мМ раствора ЦН. Для термической стабилизации гидрогели высушивали при 80 °С в течение 12 часов, затем полученные ксерогели дополнительно выдерживали при 150 °С в течение 16 часов. Интенсивность биодеградации оценивали в условиях *in vitro* с использованием анализатора текстуры TX-700. Оценку биосовместимости проводили методом прямого контакта с использованием фибробластов человека (HdFb d281), приобретенных в Банке клеточных культур «Коллекция клеточных культур» Центра коллективного пользования Института биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Оценка интенсивности биодеградации гидрогелей в условиях *in vitro* показала, что внесение ЦН в состав коллагенового раствора повышает устойчивость образованного гидрогеля к биодеградации в пять раз, прочность гидрогеля возрастает с 7 ± 3 до 35 ± 6 кПа. Установлено, что ЦН не оказывает влияния на сорбционные свойства ксерогеля, количество сорбированной влаги составляет 3,8 ± 0,7 г, что сопоставимо с исходным ксерогелем. Выявлено, что модифицированная форма гидрогеля не оказывает влияния на пролиферативную активность и скорость клеточного роста фибробластов человека. Через 48 часов совместной инкубации количество клеток увеличивается на 70 %, что сопоставимо как с контролем, так и с исходным гелем. Найдено, что поверхность гидрогеля, модифицированного ЦН, поддерживает клеточную адгезию и пролиферативную активность фибробластов.

ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты исследования дополняют данные литературы и демонстрируют перспективность применения соли лимонной кислоты для усиления гидрогелевого каркаса из полипептидных цепей коллагена и повышения его устойчивости к биодеструкции. Применение ЦН можно рассматривать как возможное решение проблемы стандартизации биофункциональных свойств коллагеновых гидрогелей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таким образом, использование ЦН в составе коллагеновых гидрогелей может быть эффективным способом повышения устойчивости тканеинженерных конструкций к биодеградации. Полученные результаты могут использоваться при создании биоматериалов медицинского назначения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: денатурированный коллаген, цитрат натрия, биомиметические материалы, биодеградация, фибробласты, тканевая инженерия, немедикаментозное лечение ран

Для цитирования / For citation: Марков П.А., Марченкова Л.А. Применение цитрата натрия для модификации биофункциональных свойств коллагенового гидрогеля: результаты экспериментального исследования. 2025; 24(5):66–72. https://doi.org/10.38025/2078-1962-2025-24-5-66-72 [Markov P.A., Marchenkova L.A. Application of Sodium Citrate to Modify Collagen Hydrogel Biofunctional Properties: Experimental Study Findings. Bulletin of Rehabilitation Medicine. 2025; 24(5):66–72. https://doi.org/10.38025/2078-1962-2025-24-5-66-72 (In Russ.).]

* **Для корреспонденции:** Марков Павел Александрович, E-mail: markovpa@nmicrk.ru, p.a.markov@mail.ru

Статья получена: 13.08.2025
Статья принята к печати: 22.08.2025
Статья опубликована: 20.10.2025

©2025, Марков П.А., Марченкова Л.А.
Pavel A. Markov, Larisa A. Marchenkova
Эта статья открытого доступа по лицензии CC BY 4.0. Издательство: ФГБУ «НМИЦ РК» Минздрава России.
This is an open article under the CC BY 4.0 license. Published by the National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology.

Application of Sodium Citrate to Modify Collagen Hydrogel Biofunctional Properties: Experimental Study Findings

Pavel A. Markov*, **Larisa A. Marchenkova**

National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology, Moscow, Russia

ABSTRACT

INTRODUCTION. Rapid destruction of materials and structures, loss of mechanical strength, deformation of architecture and shape are factors limiting the use of collagen biomaterials in regenerative medicine and tissue engineering. One of the ways to increase the strength and resistance of hydrogel biomaterials to biodegradation is to introduce additional chemical crosslinks into their composition, such as tricarboxylic acids (citric acid). However, the use of acids can provoke the death of cells in contact with the hydrogel biomaterial, which was confirmed earlier. One possible solution to this problem could be the replacement of citric acid with its salt — sodium citrate.

AIM. To evaluate the effect of sodium citrate on the structural and mechanical properties of collagen hydrogel and its biocompatibility with human skin fibroblasts.

MATERIALS AND METHODS. Listed below are the reagents and materials that were used in the present study: denatured collagen type I from First Alive Collagen (Russia), 80 mM sodium citrate solution. In order to achieve thermal stabilization, the hydrogels were subjected to a drying process at a temperature of 80 °C for a duration of 12 hours, then the resulting xerogels were additionally kept at 150 °C for 16 hours. The intensity of biodegradation was assessed *in vitro* using a TX-700 texture analyzer. The assessment of biocompatibility was conducted through direct contact using human fibroblasts (HdFb d281) obtained from the cell culture bank "Cell Culture Collection" of the Shared Use Center of the Koltzov Institute of Developmental Biology of the Russian Academy of Sciences.

RESULTS. Evaluation of the intensity of hydrogel biodegradation *in vitro* showed that the introduction of citric acid into the collagen solution increases the resistance of the formed hydrogel to biodegradation by five times, the strength of the hydrogel increases from 7 ± 3 to 35 ± 6 kPa. It was found that sodium citrate does not affect the sorption properties of the xerogel, the amount of sorbed moisture is 3.8 ± 0.7 g, which is comparable to the original xerogel. It was revealed that the modified form of the hydrogel does not affect the proliferative activity and cell growth rate of human fibroblasts. After 48 hours of co-incubation, the number of cells increases by 70 %, which is comparable to both the control and the original gel. It was found that the surface of the hydrogel modified with sodium citrate maintains cellular adhesion and proliferative activity of fibroblasts

DISCUSSION. The results of the study complement the literature data and demonstrate the potential of using citric acid salt to strengthen the hydrogel framework of collagen polypeptide chains and increase its resistance to biodegradation. The use of sodium citrate can be considered as a possible solution to the problem of standardizing the biological properties of collagen hydrogels.

CONCLUSION. Thus, the use of sodium citrate in collagen hydrogels can be an effective way to increase the resistance of tissue-engineered structures to biodegradation. The results obtained can be used in the creation of medical biomaterials.

KEYWORDS: denatured collagen, sodium citrate, biomimetic materials, biodegradation, fibroblasts, tissue engineering, non-drug wound treatment

For citation: Markov P.A., Marchenkova L.A. Application of Sodium Citrate to Modify Collagen Hydrogel Biofunctional Properties: Experimental Study Findings. Bulletin of Rehabilitation Medicine. 2025; 24(5):66–72. https://doi.org/10.38025/2078-1962-2025-24-5-66-72 (In Russ.).

* **For correspondence:** Pavel A. Markov, E-mail: markovpa@nmicrk.ru, p.a.markov@mail.ru

Received: 13.08.2025
Accepted: 22.08.2025
Published: 20.10.2025

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время сохраняется актуальность поиска эффективных способов восстановления повреждений кожных покровов, травм твердых и мягких тканей, полученных в результате внешних травмирующих воздействий или хирургических манипуляций. Современные стандарты хирургического и медикаментозного лечения тяжелых и полнослойных ран сопровождаются нежелательными реакциями и осложнениями [1]. Разработка эффективных стратегий немедикаментозного лечения и восстановления тканей возможна только при трансляции результатов фундаментальных экспериментальных исследований в тканевую инженерию и регенеративную медицину.

Одной из задач тканевой инженерии является разработка биомиметических конструкций, имитирующих внеклеточный матрикс, способных поддерживать клеточную адгезию и пролиферацию. Биомиметические материалы могут изготавливаться из полимеров искусственного и природного происхождения [2]. Однако наиболее близкими к нативному внеклеточному матриксу являются биоматериалы, изготовленные из коллагена и его денатурированных форм [3]. Такие биоматериалы имитируют внеклеточный матрикс не только на макро-, но и на микроуровне благодаря наличию полипептидных последовательностей и аминокислотных остатков, создающих паттерны адгезии и регулирующих межклеточное взаимодействие [4, 5].

С технологической точки зрения использование денатурированных форм коллагена наиболее приемлемо, поскольку расширяет методы изготовления тканеинженерных конструкций, например, с использованием методов литья, электропрядения или 3D-печати. Однако после имплантации биоматериалы из денату-

рированного коллагена (ДК) легко подвергаются биодеградации в результате ферментативного и химического расщепления при взаимодействии с клетками и межтканевой жидкостью реципиента [6]. Быстрая деструкция материалов и конструкций, потеря ими механической прочности и деформация архитектуры и формы — факторы, ограничивающие применение биоматериалов в регенеративной медицине и тканевой инженерии.

Согласно данным литературы, включение лимонной кислоты в состав электропрядных коллагеновых нановолокон повышает их прочность [7]. Однако ранее нами было выявлено, что модификация лимонной кислотой коллагенового гидрогеля наряду с увеличением его механической прочности и стабильности ингибирует пролиферацию фибробластов [8]. Между тем именно фибробласты являются основными мишенями в клеточной терапии заживления ран [9, 10].

Одним из способов повышения биосовместимости гидрогеля из ДК может быть замена лимонной кислоты на ее соль — цитрат натрия (ЦН). Однако в настоящее время применение ЦН в качестве сшивающего агента для полипептидных цепей гидрогелевых биоматериалов изучено недостаточно.

ЦЕЛЬ

Оценить влияние ЦН на структурно-механические свойства коллагенового гидрогеля и его биосовместимость с фибробластами кожи человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы следующие реактивы и материалы: ДК I типа компании First Alive Collagen (Россия). Для получения гелей 120 г ДК растворялись в 400 мл дистиллированной воды при температуре 80 °C. К 25 мл полученного раствора приливали 25 мл одного из следующих растворов: дистиллированная вода (контроль, ДК) или 80 мМ раствора ЦН (ДК + ЦН). После помешивания растворы заливали в силиконовые формы (12 см — длина, 8 см — ширина) и высушивали при 80 °C в течение 12 часов, затем полученные ксерогели дополнительно выдерживали при 150 °C в течение 16 часов [11].

Абсорбционные свойства ксерогелей оценивали по увеличению их массы через два часа инкубации в растворе солей Хэнкса при 36 °C. В качестве инкубационной среды использовали раствор соли Хэнкса (HBSS), содержащий соли Ca, Mg, без бикарбоната Na, без фенолового красного, содержащий 25 мМ HEPES. Исходный раствор Хэнкса имел pH 7.

Для оценки механических свойств полученных ксерогелей их предварительно регидратировали в растворе солей Хэнкса (pH = 7,4) в течение 12 часов при 4 °C. Объем раствора солей Хэнкса для регидратации использовали из расчета 1 мл раствора на 1 см^2 ксерогеля. Механические свойства полученных гидрогелей оценивали методом текстурного анализа.

Для оценки интенсивности биодеградации ксерогелей в условиях *in vitro* образцы помещали в лунки 6-луночных планшетов и добавляли 7 мл инкубационной среды (раствора Хэнкса). Образцы инкубировали 24 часа при 36 °C, после чего оценивали механические свойства образцов.

Анализ механических свойств образцов проводился с помощью анализатора текстуры TX-700 (Lamy Rheology Instruments, Франция) с использованием тензодатчика весом 5000 г и прикладной программы, поставляемой с устройством RheoTex. Испытания проводились при комнатной температуре. Регидратированные образцы в виде пленок средней толщиной 1,5 мм прокалывали плоским алюминиевым зондом диаметром 2 мм. Для каждого теста были выбраны следующие экспериментальные условия: скорость претеста и посттеста — 5 мм/с, скорость деформации — 1 мм/с, расстояние движения зонда — 4 мм. Твердость определяли по формуле:

$$P = F/S,$$

где F — максимум кривой сила-расстояние в ньютонах, а S — площадь поперечного сечения образца геля в м^2.

Модуль Юнга посчитывали по формуле:

$$E = (F/S)/(\Delta h/h),$$

где F — значение силы в ньютонах на кривой сила-расстояние при 4 % деформации высоты образца, S — площадь поперечного сечения образца геля в м^2, $\Delta h/h$ — 4 % деформация при проколе образца.

При оценке биологических свойств материалов руководствовались положениями стандартов, изложенными в ГОСТ ISO 10993-5-2011 «Изделия медицинские: оценка биологического действия медицинских изделий. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*». Оценку биосовместимости проводили методом прямого контакта с использованием фибробластов человека (HdFb d281), приобретенных в Банке клеточных культур «Коллекция клеточных культур» Центра коллективного пользования Института биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук.

Предварительно простерилизованные 30 % спиртом и ультрафиолетовым облучением образцы (10 × 10 мм) помещали в лунки 6-луночных культуральных планшетов из расчета один образец на лунку. Через час регидратированные образцы переносили в 25 см^3 культуральный флакон, после чего на поверхность гидрогелей покапельно вносили суспензию фибробластов (200 мкл, 1 × 10^6 клеток в мл). Инкубировали 30 минут для адгезии клеток к поверхности гидрогелей, после чего в каждый флакон дополнительно вносили 5 мл культуральной среды, содержащей фибробласты ((0,5–0,7) × 10^6 клеток в мл), общее количество повторов для каждого образца — 5 шт. Инкубировали 48 часов при стандартных условиях (37 °C, 5 % CO_2). Во всех экспериментах, где не указано иное, использовали питательную среду ДМЕМ-F12, содержащую 10 % фетальной бычьей сыворотки и 1 % раствора пенициллина-стрептомицина. Через 6, 24 и 48 часов проводили оценку количества и морфологии клеток, используя для этого инвертированный микроскоп и программное обеспечение Leica Application Suite (Leica Microsystems).

Полученные данные были обработаны программами Statistica 10, SPSS версия 20 (SPSS, Inc., Chicago, IL, США) и Microsoft Excel 2007. Данные представляли в виде среднего арифметического ± стандартное отклонение. Значимость различий была определена при помощи однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)

и парного сравнения (post hoc) критерия Тьюки. При сравнении выборочных средних, имеющих нормальное распределение, использовали *t*-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сорбционные свойства ксерогелей оценивали по увеличению их массы через 2 часа инкубации в растворе Хэнкса. Через 2 часа инкубации масса ксерогеля ДК увеличивается с 0,3 ± 0,02 до 3,65 ± 0,30 г. Установлено, что ЦН не оказывает влияние на сорбционные свойства ксерогеля, количество влаги, поглощаемой ДК + ЦН, сопоставимо с исходным ксерогелем ДК и составляет 3,8 ± 0,7 г (рис. 1).

Оценка интенсивности биодеградации гелей в условиях *in vitro* показала, что внесение в состав ДК лимонной кислоты повышает устойчивость геля (образец ДК + ЦН) к биодеградации в растворе Хэнкса. Так, например, прочность гидрогелей ДК через 24 часа инкубации в инкубационном растворе снижается на 80 % и составляет 7 ± 3 кПа. Механическая прочность гидрогелей ДК + ЦН, содержащих соль лимонной кислоты, также снижается, однако интенсивность биодеградации в пять раз ниже по сравнению с гидрогелями ДК и составляет 35 ± 6 кПа (рис. 2).

Оценка морфометрических характеристик клеток показала, что через 24 часа инкубации как в контроле (рис. 3A), так и при совместной инкубации с образцами гидрогелей ДК и ДК + ЦН все фибробласты приобретают характерную веретеновидную форму с развитыми филоподиями (рис. 3B, C). Полученные результаты указывают на то, что гидрогели не оказывают ингибирующего влияния на клеточный рост и жизнеспособность фибробластов.

На следующем этапе исследования оценивали пролиферативную активность фибробластов. В контроле через сутки культивирования в стандартных условиях количество клеток увеличивается на 70 % и составляет 58 ± 6 шт/200 мкм^2. Через 48 часов количество клеток составляет 65 ± 7 шт/200 мкм^2 (рис. 4). Установлено, что при совместном культивировании фибробластов с образцами гидрогелей ДК и ДК + ЦН количество клеток в каждый период сопоставимо с контрольными значениями и к концу наблюдения составляет 57 ± 4 и 62 ± 8 шт/200 мкм^2 соответственно (рис. 4).

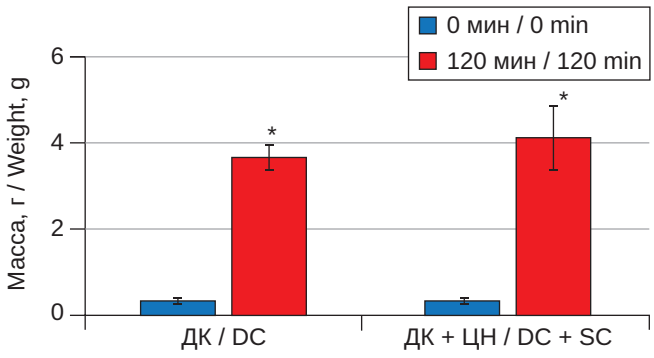

Рис. 1. Абсорбционные свойства ксерогелей из денатурированного коллагена (ДК), денатурированного коллагена, содержащего цитрат натрия (ДК + ЦН); * — различия достоверны (p < 0,05) по сравнению с сухим образцом (0 минут); M ± SD, n = 5

Fig. 1. Absorption properties of xerogels from denatured collagen (DC), denatured collagen containing sodium citrate (DC + SC); * — differences are significant (p < 0.05) compared to dry sample (0 minute); M ± SD, n = 5

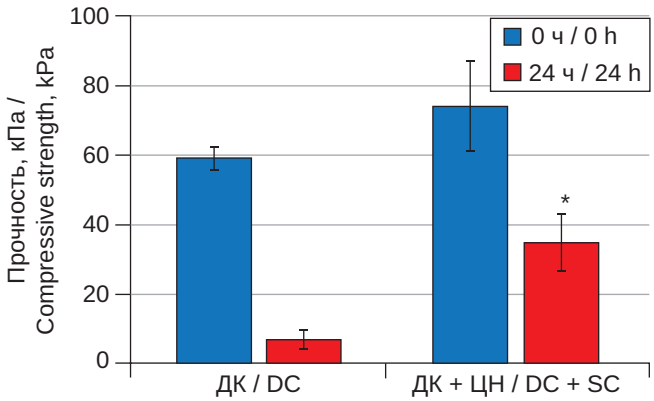

Рис. 2. Механические свойства гидрогеля из денатурированного коллагена (ДК) и денатурированного коллагена, содержащего цитрат натрия (ДК + ЦН); * — различия достоверны (p < 0,05) по сравнению с ДК, после 24 часов инкубации. M ± SD, n = 10

Fig. 2. Mechanical properties of hydrogel from denatured collagen (DC) and denatured collagen containing sodium citrate (DC + SC); * — differences are significant (p < 0.05) compared to DC, after 24 hours of incubation. M ± SD, n = 10

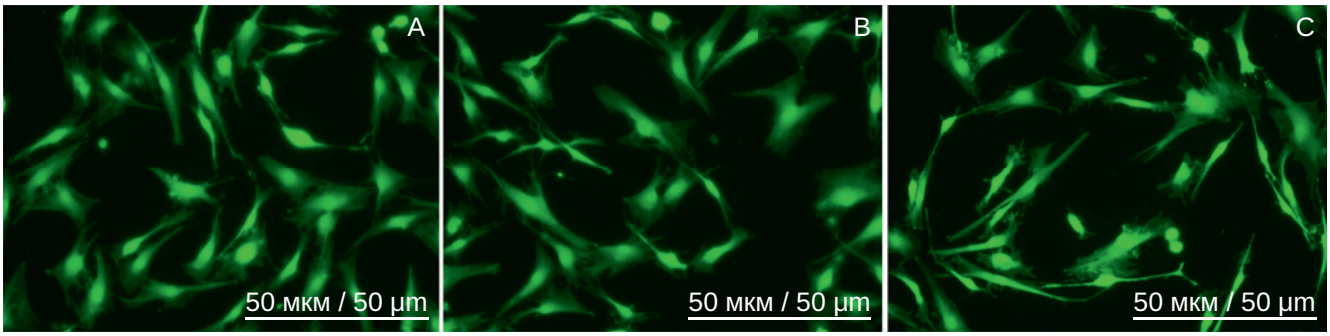

Рис. 3. Фибробласты человека через 24 часа культивирования в стандартной культуральной среде (A) и при совместном культивировании с гидрогелями из денатурированного коллагена (B) и денатурированного коллагена, содержащего цитрат натрия (C). Увеличение ×200, длина шкалы — 50 мкм. Люминесцентная микроскопия, окрашивание — Кальцеин АМ

Fig. 3. Human fibroblasts after 24 hours of cultivation in a standard culture medium (A) and during co-cultivation with hydrogels of denatured collagen (B), denatured collagen containing sodium citrate (C). Magnification ×200, scale length — 50 µm. Fluorescence microscopy, Calcein AM staining

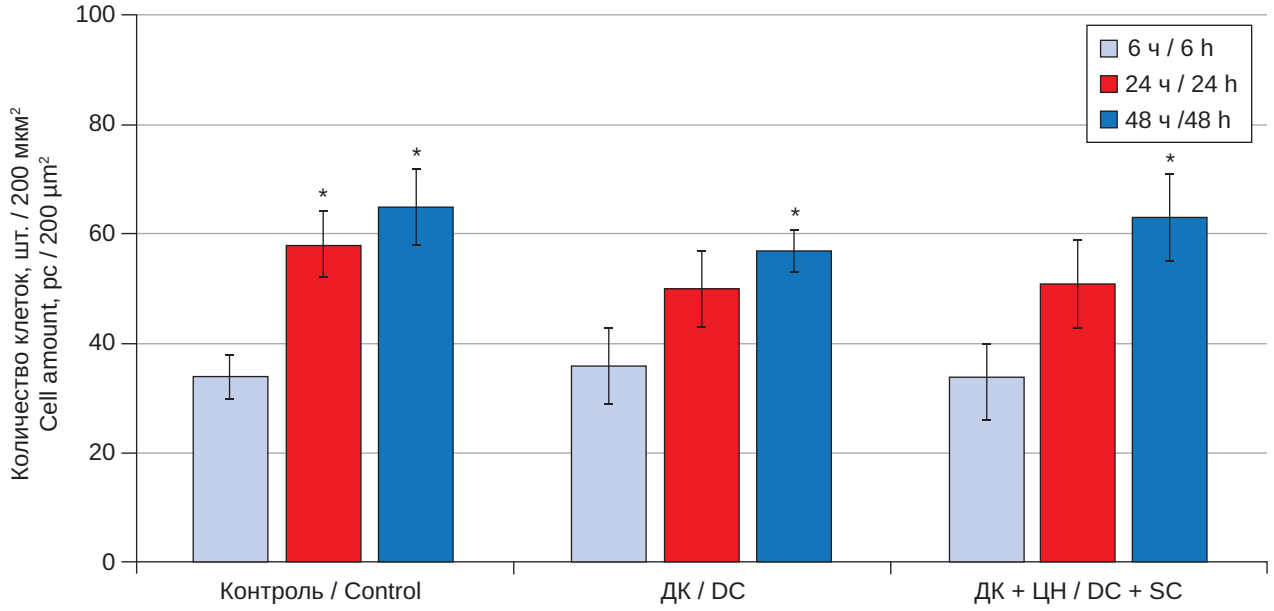

Рис. 4. Количество фибробластов человека через 6, 24 и 48 часов культивирования в стандартной культуральной среде (контроль) и при совместном культивировании с гидрогелями из денатурированного коллагена (ДК) и денатурированного коллагена, содержащего цитрат натрия (ДК + ЦН); * — различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению с начальной точкой измерения в группе; M ± SD, $n = 5$

Fig. 4. The number of human fibroblasts after 6, 24 and 48 hours of cultivation in a standard culture medium (control) and during co-cultivation with hydrogels of denatured collagen (DC), denatured collagen containing sodium citrate (DC + SC); * — differences are significant ($p < 0.05$) compared to the initial measurement point in the group; M ± SD, $n = 5$

На заключительном этапе исследования оценивали способность гидрогелей поддерживать рост и пролиферативную активность фибробластов, адгезированных на поверхности гидрогелей. Через 96 часов после внесения клеток на поверхность гидрогеля ДК фибробласты образуют монослой, количество клеток составляет более 50 шт/мкм² (рис. 5А). Фибробласты обладают веретеновидной формой и размерами, характерными для этого фенотипа клеток (рис. 5А). Установлено, что внесение в состав гидрогеля ЦН не вызывает изменений в способности гидрогеля поддерживать рост и пролиферативную активность фибробластов, адгезированных на его поверхности. Количество и морфология клеток, адгезированных на поверхности гидрогеля ДК + ЦН (рис. 5В), сопоставимы с количеством и морфологией клеток, адгезировавшихся на гидрогеле ДК (рис. 5А), и клеток, культивированных на пластике в стандартных условиях (рис. 3А).

Таким образом, установлено, что внесение в состав гидрогеля соли лимонной кислоты повышает устойчивость гидрогеля к биодеградации *in vitro*. Результаты оценки жизнеспособности фибробластов показывают, что гидрогель из ДК, содержащий в своем составе соль лимонной кислоты, не препятствует клеточному росту и пролиферативной активности фибробластов.

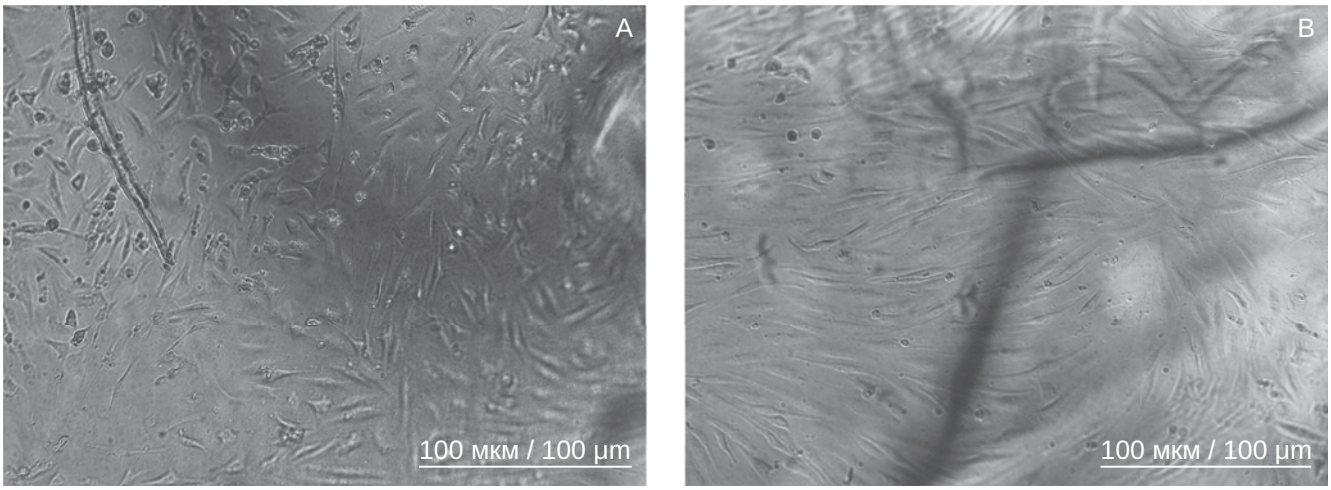

Рис. 5. Фибробласты человека через 96 часов культивирования на поверхности гидрогелей из денатурированного коллагена (А) и денатурированного коллагена, содержащего цитрат натрия (В). Световая микроскопия, увеличение ×100, длина шкалы — 100 мкм

Fig. 5. Human fibroblasts after 96 hours of cultivation on the surface of hydrogels from denatured collagen (A) and denatured collagen containing sodium citrate (B). Light microscopy, magnification ×100, scale length — 100 µm

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование проведено с целью оценки клеточных реакций на гидрогели из ДК, стабилизированные солью лимонной кислоты и высокотемпературной обработкой.

Сочетание химической сшивки трикарбоновыми кислотами и высокотемпературного воздействия — достаточно популярный метод стабилизации полипептидных коллагеновых цепей, применяемый, например, при создании электропрядных нановолоконных биомиметических материалов [11–13]. Однако при разработке биоматериалов для лечения глубоких острых или полнослойных ран, затрагивающих всю толщу дермы, более подходящими материалами являются объемные биоматериалы, способные заполнить всю полость раневого ложа [14, 15]. Таким образом, гидрогели, полученные методом литья в формы, больше соответствуют клиническим запросам и требованиям, предъявляемым для лечения и сокращения времени закрытия сложных ран с объемной потерей мягких тканей. Однако внесение лимонной кислоты в концентрации и количестве, необходимых для эффективной сшивки полипептидных цепей, в гидрогелевый матрикс может отрицательно сказаться на его биосовместимости [8].

Традиционно для стабилизации коллагеновой или иной полипептидной гидрогелевой матрицы используются органические сшивающие агенты (эпоксиды, альдегиды, карбодиимиды), фотохимические, сшивающие агенты (акриламиды, диазирины) или биополимеры — фибрин шелка, хитозан, гиалуроновая кислота и т. д. [16]. Применение ЦН для усиления каркаса коллагеновых гидрогелей и снижения его биодеградации является новым подходом. Ранее сообщалось, что ЦН способен модулировать биофункциональные свойства альгинатных гидрогелей или их композиций [17, 18].

Результаты проведенного исследования демонстрируют, что замена лимонной кислоты на ее натриевую соль в растворе ДК позволяет не только сохранить устойчивость образованного гидрогеля к биодеградации *in vitro*, но и повысить его биосовместимость с фибробластами.

Применение ЦН можно рассматривать как возможное решение проблемы стандартизации биофункциональных свойств коллагеновых гидрогелей, поскольку химический состав коллагена, а также структурно-механические свойства коллагеновых гидрогелей, как и многих других природных полимеров, подвержены вариабельности, зависящей как от источника, так и от метода выделения [18].

Таким образом, полученные результаты дополняют данные литературы и демонстрируют перспективность применения ЦН для усиления гидрогелевого каркаса из полипептидных цепей коллагена и повышения его устойчивости к биодеструкции.

Ограничения исследования

Из ограничений исследования следует отметить следующие:

1. В работе не отражена функциональная активность фибробластов, характеризующая их способность генерировать белки внеклеточного матрикса. Между тем прорегенеративная функция фибробластов и миофибробластов состоит именно в восполнении компонентов межклеточного матрикса, утраченного при ранении.

2. Имплантация ксеногенных тканеинженерных конструкций подразумевает их взаимодействие с клетками иммунной системы (системные моноциты, резидентные макрофаги, тучные клетки и др.) и с растворимыми факторами (белки системы комплемента и межтканевой жидкости, цитокины и т. д.). Характер такого взаимодействия будет определять такие процессы, как реакция на инородное тело, биодеградация и эффективность репаративной регенерации тканей. Однако в проведенном исследовании данный аспект не изучался, что пока ограничивает использование полученных результатов на практике.

3. В проведенном исследовании не оценивалось влияние нового гидрогелевого биоматериала на межклеточное взаимодействие между клетками различных фенотипов, например, между фибробластами и моноцитами и макрофагами. Хорошо известно, что эффективность такого межклеточного взаимодействия является основополагающим фактором для заживления ран.

Кроме того, следует отметить, что обязательным этапом, предшествующим переходу к доклиническим исследованиям, является проведение исследований с участием экспериментальных животных с использованием моделирования глубоких и полнослойных ран, полученных в результате механического или термического воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен новый способ повышения механической прочности и устойчивости к биодеградации гидрогеля из ДК путем включения в его состав ЦН. Применение в качестве сшивающего агента ЦН позволяет повысить адгезивность гидрогеля в отношении фибробластов человека и снизить его цитотоксичность. Создание биоматериалов с контролируемыми структурно-механическими свойствами может быть решением проблемы прогнозируемого клеточного ответа на гетерогенные по составу и структуре биополимеры.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Марков Павел Александрович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биомедицинских технологий, Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии Минздрава России.
E-mail: markovpa@nmicrk.ru, p.a.markov@mail.ru;
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4803-4803

Марченкова Лариса Александровна, доктор медицинских наук, руководитель научно-исследовательского управления, главный научный сотрудник отдела соматической реабилитации, репродуктивного здоровья и активного долголетия, профессор кафедры восстановительной медицины, физической терапии и медицинской реабилитации, Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии Минздрава России.
ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1886-124X

Вклад авторов. Все авторы подтверждают свое авторство в соответствии с международными критериями ICMJE (все авторы внесли значительный вклад в концепцию, дизайн исследования и подготовку статьи, прочитали и одобрили окончательный вариант до публикации). Наибольший вклад

распределен следующим образом: Марков П.А. — научное обоснование, написание черновика рукописи, проверка и редактирование рукописи; Марченкова Л.А. — проверка и редактирование рукописи.

Источники финансирования. Данное исследование не было поддержано никакими внешними источниками финансирования.

Конфликт интересов. Марченкова Л.А. — председатель редакционного совета журнала «Вестник восстановительной медицины». Марков П.А. заявляет отсутствие конфликта интересов.

Доступ к данным. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить по обоснованному запросу у корреспондирующего автора.

ADDITIONAL INFORMATION

Pavel A. Markov, Ph.D. (Biol.), Leading Researcher, Department of Biomedical Technologies, National Medical Research Center of Rehabilitation and Balneology.
E-mail: markovpa@nmicrk.ru, p.a.markov@mail.ru;
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4803-4803

Larisa A. Marchenkova, D.Sc. (Med.), Head of the Research Department, Chief Researcher of the Department of Somatic Rehabilitation, Reproductive Health and Active Longevity, Professor at the Department of Restorative Medicine, Physical Therapy and Medical Rehabilitation, National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology.
ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1886-124X

Author Contributions. All authors confirm their authorship according to the international ICMJE criteria (all authors contributed significantly to the conception, study design and preparation of the article, read and approved the final version before publication). Special Contributions: Markov P.A. — conceptualization, writing — original draft, writing — review & editing; Marchenkova L.A. — writing — review & editing.

Funding. This study was not supported by any external funding sources.

Disclosure. Marchenkova L.A. — Chair of the Editorial Council of Bulletin of Rehabilitation Medicine Journal. Markov P.A. declares no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Data Access Statement. The data that support the findings of this study are available on reasonable request from the corresponding author.

Список литературы / References

1. Amadeh A., Mohebbi N., Amadeh Z., Jamshidbeigi A. Comparative Efficacy of Autolytic and Collagenase-Based Enzymatic Debridement in Chronic Wound Healing: A Comprehensive Systematic Review. Int Wound J. 2025; 22(4): e70177. https://doi.org/10.1111/iwj.70177
2. Nakayama K.H., Shayan M., Huang N. Engineering Biomimetic Materials for Skeletal Muscle Repair and Regeneration. Advanced healthcare materials. 2019; 8(5): e1801168. https://doi.org/10.1002/adhm.201801168
3. Le Corre-Bordes D., Hofman K., Hall B. Guide to electrospinning denatured whole chain collagen from hoki fish using benign solvents. Int J Biol Macromol. 2018; 112: 1289–1299. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.088
4. Ratnatilaka Na Bhuket P., Li Y., Yu S.M. From Collagen Mimetics to Collagen Hybridization and Back. Acc Chem Res. 2024; 57(12): 1649–1657. https://doi.org/10.1021/acs.accounts.3c00772
5. Lin K., Zhang D., Macedo M.H., et al. Advanced collagen-based biomaterials for regenerative biomedicine. Advanced Functional Materials. 2019; 29: 1804943. https://doi.org/10.1002/adfm.201804943
6. Salvatore L., Gallo N., Natali M.L., et al. Mimicking the Hierarchical Organization of Natural Collagen: Toward the Development of Ideal Scaffolding Material for Tissue Regeneration. Front Bioeng Biotechnol. 2021; 9: 644595. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.644595
7. Jayachandran B., Parvin T.N., Alam M.M., Chanda K., Mm B. Insights on Chemical Crosslinking Strategies for Proteins. Molecules. 2022; 27(23): 8124. https://doi.org/10.3390/molecules27238124
8. Еремин П.С., Рожкова Е.А., Марков П.А. Модификация и характеристика биофункциональных свойств коллагенсодержащих ксерогелей медицинского назначения: результаты экспериментального исследования. Вестник восстановительной медицины. 2025; 24(3): 29–37. https://doi.org/10.38025/2078-1962-2025-24-3-29-37 [Eremin P.S., Rozhkova E.A., Markov P.A. Modification and Characteristics of Biofunctional Properties of Collagen-Containing Xerogels for Medical Purposes: an Experimental Study Results. Bulletin of Rehabilitation Medicine. 2025; 24(3): 29–37. https://doi.org/10.38025/2078-1962-2025-24-3-29-37 (In Russ.).]
9. Rippa A.L., Kalabusheva E.P., Vorotelyak E.A. Regeneration of Dermis: Scarring and Cells Involved. Cells. 2019; 8(6): 607. https://doi.org/10.3390/cells8060607
10. Xue M., Zhao R., March L., Jackson C. Dermal Fibroblast Heterogeneity and Its Contribution to the Skin Repair and Regeneration. Adv Wound Care (New Rochelle). 2022; 11(2): 87–107. https://doi.org/10.1089/wound.2020.1287
11. Cumming M.H., Leonard A.R., LeCorre-Bordes D.S., Hofman K. Intra-fibrillar citric acid crosslinking of marine collagen electrospun nanofibres. Int J Biol Macromol. 2018; 114: 874–881. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.180
12. Uranga J., Nguyen B.T., Si T.T., et al. The Effect of Cross-Linking with Citric Acid on the Properties of Agar/Fish Gelatin Films. Polymers. 2020; 12(2): 291. https://doi.org/10.3390/polym12020291
13. Salihu R., Razak S.I., Zawawi N.A., et al. Citric acid: A green cross-linker of biomaterials for biomedical applications, Eur. Polym. J. 2021; 146: 110271. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110271
14. Thomas S., Yen P., Sclafani J., et al. Amniotic Suspension Allograft and Fetal Bovine Acellular Dermal Matrix to Treat Complex, Acute, Full-thickness Wounds: A Retrospective Analysis of Safety and Treatment Efficacy. Wounds. 2020; 32(1): 30–36.
15. Bosque B.A, Dowling S.G, May B.C.H., et al. Ovine Forestomach Matrix in the Surgical Management of Complex Lower-Extremity Soft-Tissue Defects. J Am Podiatr Med Assoc. 2023; 113(3): 22–081. https://doi.org/10.7547/22-081
16. Pires Figueiredo M., Rodríguez-Fernández S., Copes F., et al. Review of collagen type I-based hydrogels: focus on composition-structure-properties relationships. NPJ biomedical innovations. 2025; 2(1): 16. https://doi.org/10.1038/s44385-025-00018-w
17. Wu Z., Su X., Xu Y., et al. Bioprinting three-dimensional cell-laden tissue constructs with controllable degradation. Scientific reports. 2016; 6: 24474. https://doi.org/10.1038/srep24474
18. Lertwimol T., Sonthithai P., Hankamolsiri W., et al. Development of chondrocyte-laden alginate hydrogels with modulated microstructure and properties for cartilage regeneration. Biotechnology progress. 2023; 39(2): e3322. https://doi.org/10.1002/btpr.3322