

# МІНІМІАЦІЯ РИЗИКІВ ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ МАТРИЧНИХ СКАФОЛДІВ НИРОК ШЛЯХОМ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗАЦІЇ

*Прозор А. В., студ. (гр. БФ-11, ФБМІ КПІ ім. Ігоря Сікорського);  
Демчук Г. В., к.т.н., доц. (каф. ОППЦБ КПІ ім. Ігоря Сікорського)*

**Анотація.** В даній статті, описані ймовірні ризики під час лабораторного виділення матричного скафолду зі свинячої нирки шляхом децелюляризації та подальшого використання в створенні біоматеріалів, штучної нирки для *in vitro* діагностики та імплантації у тіло людини.

**Ключові слова:** децелюляризація нирок, позаклітинний матрикс нирки, скафолд, перфузійний насос, охорона праці.

**Abstract.** This article describes the possible risks during the laboratory isolation of matrix scaffold from a porcine kidney by decellularization and its subsequent use in the creation of biomaterials, artificial kidney for *in vitro* diagnostics and implantation into the human body.

**Keywords:** decellularized kidneys, renal extracellular matrix, scaffold, perfusion pump, occupational safety.

**Вступ.** Матричні скафолди нирок, що виділяються шляхом децелюляризації, використовуються для створення біоматеріалів, штучної нирки для використання задля подальшої імплантації у організм людини або ж *in vitro* тестування медичних виробів та лікарських засобів.

**Мета.** Дослідити безпечність методики децелюляризації цілої свинячої нирки для виділення позаклітинного матриксу нирки, що використовується як скафолд для подальшого створення штучної нирки або біоматеріалів.

**Аналіз стану питання.** Наразі існує потреба в додаткових донорських нирках, адже на стан 2024 року, близько 90 000 пацієнтів чекають на трансплантацію лише в США [1]. Для порівняння, на території США у 2023 році було зроблено близько 27 000 операцій з пересадки нирки. Ідея створення штучної нирки починається зі створення скафолду для заселення клітинами. Однак будь-які технології для покращення здоров'я людини повинні бути безпечними для їхніх виконавців.

**Методики, матеріали і результати досліджень.** Для дослідження потенційних небезпек, проведемо аналіз складників, необхідних для успішної децелюляризації нирки, їхню кількість та час взаємодії персоналу згідно до статті [2]. Ці дані надані у таблиці 1.

## Перелік складників для децелюляризації свинячої нирки

Назва складнику	Кількість	Час взаємодії з персоналом за весь період децелюляризації	Небезпека
5% надощтова кислота	≈0,1 л	≈40 хв	<p>H302+H312+H332 Шкідливий при ковтанні, контакті зі шкірою або при вдиханні.</p> <p>H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей.</p> <p>H335 Може викликати подразнення дихальних шляхів.</p> <p>H410 Дуже токсичний для водних організмів з довготривалими наслідками.</p> <p>H272 Може посилювати вогонь; окислювач.</p> <p>H290 Може викликати корозію металів [3.]</p>
0,2% розчин надощтової кислоти	2 л	≈20 хв	<p>H302+H312+H332 Шкідливий при ковтанні, контакті зі шкірою або при вдиханні.</p> <p>H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей.</p> <p>H335 Може викликати подразнення дихальних шляхів.</p> <p>H410 Дуже токсичний для водних організмів з довготривалими наслідками.</p> <p>H272 Може посилювати вогонь; окислювач.</p> <p>H290 Може викликати корозію металів [3].</p>
Хлорид натрію	≈0,2 кг	≈20 хв	-

20-кратний фосфатний буфер	≈20 л	≈20 хв	H320 Викликає подразнення очей [4].
Розчин фосфатного буферу	280 л	≈140 хв	H320 Викликає подразнення очей [4].
0,2% Гепарин	≈0,003 л	≈5 хв	-
Розчин гепарину	5,5 л	≈20 хв	-
Додецилсульфат натрію	≈2 кг	≈20 хв	H228 Легкозаймиста тверда речовина. H302 + H332 Шкідливий при ковтанні або вдиханні. H315 Викликає подразнення шкіри. H318 Викликає серйозні пошкодження очей. H335 Може викликати подразнення дихальних шляхів. H412 Шкідливий для водних організмів з довготривалими наслідками [5].
1% розчин додецилсульфату натрію	200 л	≈100 хв	H228 Легкозаймиста тверда речовина. H302 + H332 Шкідливий при ковтанні або вдиханні. H315 Викликає подразнення шкіри. H318 Викликає серйозні пошкодження очей. H335 Може викликати подразнення дихальних шляхів. H412 Шкідливий для водних організмів з довготривалими наслідками [5].

Тритон X-100	≈0,4 л	≈20 хв	Н302 Шкідливо при ковтанні Н318 Викликає серйозні пошкодження очей. Н411 Токсичний для водних організмів з довготривалими наслідками [6].
Розчин тритону X-100	40 л	≈20 хв	Н302 Шкідливо при ковтанні. Н318 Викликає серйозні пошкодження очей. Н411 Токсичний для водних організмів з довготривалими наслідками [6].
Свиняча нирка	1 шт	≈30 хв	- [7]
Скафолд нирки	1 шт	≈20 хв	За регламентом – не повинен містити залишків використаних хімічних речовин, тому є безпечним.

Процес децелюляризації свинячої нирки пов'язаний з використанням багатьох хімічних реагентів, найбільш небезпечними з яких є Тритон X-100, додецилсульфат натрію та надоцтова кислота. Неіонний детергент тритон X-100 та іонний детергент додецилсульфат натрію виступають необхідними реагентами для вимиття клітин з нирки. Реагентами для децелюляризації можуть також бути інші за хімічною природою речовини [8,9,10,11]: кислоти (надоцтова), луги (гідроксид натрію, гідроксид кальцію, сульфат магнію), органічні детергенти (трибутилфосфат, ацетон, спирти), біологічні агенти (антибіотики, нуклеази, протеази). Однак більшість з них несуть значні ризики, пов'язані з недостатнім вимиттям реагентів зі скафолду, та через те, що ефекти на здоров'я людини є більш сильними, ніж в зазначеному протоколі. Наприклад, трибутилфосфат канцерогенний, гідроксид натрію викликає сильні опіки та пошкодження сітківки ока, протеази викликають роздратування шкіри і проходять крізь трансдермальний бар'єр.

Однак, всі перелічені ризики, пов'язані з реагентами таблиці 1, можуть бути мінімізовані підтриманням відповідної безпеки умов праці в хімічній лабораторії. Для цього весь процес перфузії готових розчинів відбувається ламінарному боксі з системою повітревідведення (в спеціально запроєктованому біореакторі з перфузійним насосом в який поміщається свиняча нирка). Задля попередження потенційних аварій, працівники повинні

бути обізнаними з технологічними чинниками і контролювати зазначені параметри:

- дефекти перфузійного насосу, біореактору, інших приладів під тиском;
- виробничий брак посудин для зберігання реактивів, приготування розчинів та підключення до реактору.
- загальні проблеми з повітровідведенням в ламінарному боксі, або лабораторії в цілому.

Крім того, для забезпечення безпечності працівника, необхідно переносити великі каністри розчинів, використовуючи додаткову металеву посудину та візок для хімічних реагентів, а також пройти первинний інструктаж з охорони праці та пожежної безпеки. При цьому кожен співробітник повинен бути забезпечений відповідними засобами індивідуального захисту (лабораторний халат, рукавиці, захисні лабораторні окуляри, закрите взуття та одяг, що закриває більшість площі шкіри, такі як штани, кофта з довгими рукавами),

В свою чергу перфузійні насоси підвищують рівень шуму та вібрації на робочому місці, тому окрім типових засобів індивідуального захисту персоналу для біолабораторії, необхідно додати засоби індивідуального захисту органів слуху (беруші 3M або Delta) і віброзахисту (проти вібраційні устілки). Контроль перфузійного насосу може відбуватися веденням журналу з експлуатації, додаванням правила безпечної експлуатації приладу та спостереженням за приладом під час його роботи [14]. Хоча, процес вимиття клітин з нирки достатньо автоматизований, людський контроль за перфузією розчинами необхідний. Для того, щоб зробити робоче місце менш шкідливим для слуху, найкращим варіантом є створення звукоізоляційної кімнати з широкими вікнами для спостереження, в якій будуть перфузійний насос та біореактор з ниркою [15].

**Висновки.** Описана методика отримання матричного скафолду свинячої нирки є найбільш безпечним способом, порівняно з іншими. Однак, дану методику важливо покращити шляхом посиленого контролю основного приладу, перфузійного насосу, та додаванням берушів до основного набору засобів індивідуального захисту персоналу.

## Література

1. Organ Donation Statistics | [organdonor.gov](https://www.organdonor.gov). Information about Organ, Eye, and Tissue Donation | [organdonor.gov](https://www.organdonor.gov). URL: <https://www.organdonor.gov/learn/organ-donation-statistics> (дата звернення: 23.10.2024).

2. Perfusion decellularization of whole organs / J. P. Guyette et al. *Nature Protocols*. 2014. Vol. 9, no. 6. P. 1451–1468. URL: <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.097> (date of access: 23.10.2024).

3. Chemi-Kal Hygiene Solutions | 25 Years of Industrial Cleaning. URL: <https://www.chemi-kal.co.uk/dl-manager/Peracetic-Acid-5-Percent.pdf> (дата звернення: 23.10.2024).

4. Chemical Analysis, Life Sciences, and Diagnostics | Agilent. URL: [https://www.agilent.com/cs/library/msds/SDS211\\_Australia.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/msds/SDS211_Australia.pdf) (дата звернення: 23.10.2024).

5. Dodecyl sulfate sodium salt SDS. URL: [https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/msds/MDA\\_CHEM-822050?Origin=PDP](https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/msds/MDA_CHEM-822050?Origin=PDP) (дата звернення: 23.10.2024).

6. TRITON® X 100 for scintillation SDS. Carl Roth - International | Homepage. URL: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-6683-GB-EN.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyODYwMjR8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oZDkvaGIyLzg5OTY1OTc4NTgzMzQucGRmfDVkMTFjOGQ4MDY3NzdkNTI3MzE1ZDAzMTU3OWY4YzU5MmUzNjE5YzkyMTYwMjY3NGFhYzZlYzBlODNiMDUwZTA> (дата звернення: 23.10.2024).

7. Porcine (Pig) Tissues SDS. Animal and Human Biologicals | Pel-Freez Biologicals. URL: [https://www.pel-freez.com/wp/wp-content/uploads/datasheet/59401%20-%2059499%20Porcine%20\(Pig\)%20Tissues%20GHS%20SDS%2016part%20Rev%201.0.pdf](https://www.pel-freez.com/wp/wp-content/uploads/datasheet/59401%20-%2059499%20Porcine%20(Pig)%20Tissues%20GHS%20SDS%2016part%20Rev%201.0.pdf) (дата звернення: 23.10.2024).

8. GILBERT T., SELLARO T., BADYLAK S. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*. 2006. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.02.014> (дата звернення: 23.10.2024).

9. Keane T. J., Swinehart I. T., Badylak S. F. Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance. *Methods*. 2015. Vol. 84. P. 25–34. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.03.005> (дата звернення: 23.10.2024).

10. Wang X., Chan V., Corridon P. R. Decellularized blood vessel development: Current state-of-the-art and future directions. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.951644> (дата звернення: 23.10.2024).

11. Gupta S. K., Mishra N. C., Dhasmana A. Decellularization Methods for Scaffold Fabrication. *Methods in Molecular Biology*. New York, NY, 2017. P. 1–10. URL: [https://doi.org/10.1007/7651\\_2017\\_34](https://doi.org/10.1007/7651_2017_34) (дата звернення: 23.10.2024).

12. Tributyl Phosphate (TBP) SDS. Valudor Products - A Global Leader In Chemical Distribution. URL: <https://www.valudor.com/wp-content/uploads/2024/04/Tributyl-Phosphate-TBP.pdf> (дата звернення: 23.10.2024).

13. Protease SDS. Edvotek. URL: <https://www.edvotek.com/site/pdf/Protease.pdf> (дата звернення: 23.10.2024).

14. А.В Гавриляк. Вимоги безпеки під час експлуатації насоса «Brushless DC Pump». м. Вінниця.

15. Охорона праці: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. – К.: Ельга, Ніка-Центр, 2003. – 280 с.