

Разработка показателей качества аутологичного хрящевого импланта для коррекции дефектов хрящевой ткани

Научный руководитель – Еремеев Артём Валерьевич

Владимирова Татьяна Викторовна

Студент (бакалавр)

НИИ физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства,
Москва, Россия

E-mail: tat.vlad24@gmail.com

Восстановление дефектов хрящевой ткани после повреждений или при патологиях - актуальная проблема медицины. Из-за физиологических и гистологических особенностей хрящевая ткань, особенно ткань суставов, практически не регенерирует, а возникающее воспаление ведет к образованию соединительной ткани, которая не способна выполнять функции хряща. Происходит прогрессирование патологического процесса. Фармацевтических препаратов, полностью восстанавливающих поврежденную хрящевую ткань, на сегодняшний день на рынке нет, что делает очень востребованными работы по созданию аутологичного биомедицинского клеточного продукта.

В работе проводился подбор основных критериев качества, которые можно использовать как для аутентификации разрабатываемого биомедицинского клеточного продукта (БМКП) на основе аутологичных хондроцитов, так и, впоследствии, для составления спецификации на продукт. Была проведена оптимизация протоколов культивирования хондроцитов для получения культуры хондроцитов с заданными характеристиками. За основу взяли технологию получения 3D-продуктов (мультислоев) из аурикулярных/назальных хондроцитов и модифицированную нами методику получения культуры хондроцитов из хрящевой ткани коленного или тазобедренного сустава человека. Оценивали влияние сывороток разных типов (эмбриональная телячья сыворотка (FBS), сыворотка пациента) и кондиционированной среды на скорость образования монослоя хондроцитов с помощью прибора IncuCyte. Было показано, что использование фильтрованной сыворотки пациентов приводит к увеличению в среднем на 15-20% скорости достижения конfluence по сравнению с FBS и кондиционированной средой.

Культура клеток гомогенна в пределах одного пассажа, однако, морфология клеток в культуре варьировала от донора к донору. Для определения жизнеспособности культуры хондроцитов использовали метаболический краситель Presto Blue с последующей детекцией флюоресценции на планшетном ридере. Определение экспрессии хондрогенных маркеров проводили с помощью методов иммуноцитохимии и RT-PCR. Иммуноцитохимический анализ показал, что в культуре хондроцитов, культивируемых в классической среде с 10% FBS с 1 по 3 пассаж экспрессируются хондрогенные маркеры Aggrecan и Collagen 1 типа, снижаясь после 3го пассажа, экспрессия CD105 практически не детектировалась.

Таким образом, была оптимизирована и модифицирована технология получения культуры аутологичных хондроцитов и подобраны основные морфологические и фенотипические характеристики этой культуры, что позволит, в перспективе, разработать биомедицинский клеточный продукт.