

Оценка жизнеспособности реберных хондроцитов в фибриновой 3D системе

Научный руководитель – Куренкова Анастасия Дмитриевна

Шелег Софья Андреевна

Студент (магистр)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: sonchesshel@yandex.ru

Суставной хрящ характеризуется уникальными биомеханическими свойствами, однако имеет низкий регенеративный потенциал [1]. На сегодняшний день наиболее эффективными методами реконструкции хряща являются трансплантация аутологичного хряща или хондроцитов, полученных из ненагружаемых областей сустава. Однако к ограничениям данных подходов относятся патологии донорского участка и ограниченное количество материала. Кроме того, широко применяются подходы тканевой инженерии с использованием фибриновых гидрогелей, засеянных хондроцитами гиалинового хряща [2]. Альтернативным методом может являться трансплантация аутологичных реберных хондроцитов, инкапсулированных в фибриновый гель.

Целью работы было оптимизировать методику выделения и культивирования хондроцитов, полученных из ребра крысы, а также оценить их жизнеспособность в фибриновом геле при различной плотности клеток. Для этого из ребра крысы были получены хондроциты, которые культивировали в монослойной культуре один пассаж. Для оценки жизнеспособности клеток суспензию хондроцитов с концентрацией 5000, 10000, 15000 кл/лунке соответственно замешивали с раствором фибриногена (25 мг/мл), а затем добавляли равный объем раствора тромбина (5 Ед/мл). В качестве контроля использовали хондроциты в 2D культуре. Анализ цитотоксичности по флуоресценции Presto Blue проводили в двух временных точках – через 3 часа после инкапсулирования, а также через сутки культивирования.

Оценка жизнеспособности реберных хондроцитов, проведенная после помещения в гидрогель, показала, что группы, имеющие одинаковую плотность клеток в 2D и 3D культурах, имеют схожую тенденцию к увеличению интенсивности флуоресценции. Средняя интенсивность флуоресценции в геле и в двумерной культуре не имела статистически значимой разницы, что может свидетельствовать об отсутствии цитотоксического действия фибринового клея. В эксперименте с культивированными в течение суток хондроцитами наблюдали статистически значимое снижение метаболической активности клеток в 3D культуре с плотностью 1000 кл/лунке. Отмеченное падение может быть следствием как снижения метаболической активности клеток, так и опосредованным гелем снижением интенсивности флуоресценции. Плотность клеток 5000 кл/лунке была определена нами как оптимальная для культивирования *in vitro* в фибриновом геле.

Таким образом, создание тканеинженерной конструкции с оптимальными условиями трехмерных клеточных систем на основе фибрина и реберных хондроцитов может являться перспективным терапевтическим подходом для реконструкции поражений суставного хряща.

Работа выполнена при поддержке РНФ 23-75-01066

Источники

1. Myers E. R., Mow V. C. Biomechanics of cartilage and its response to biomechanical stimuli //Hall B, ed. Cartilage, structure, Junction, and biochemistry. – 2012. – С. 313-37.
2. Peretti G. M. et al. Review of injectable cartilage engineering using fibrin gel in mice and swine models //Tissue engineering. – 2006. – Т. 12. – №. 5. – С. 1151-1168.