

Исследование функциональности гепатоцитов на примере концентрации альбумина с использованием спектрофотометрического анализа

Научный руководитель – Агладзе Константин Игоревич

Бакуменко Сергей Сергеевич

Студент (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: bakumenko.ss@phystech.edu

Одной из наиболее актуальных задач современной медицины является развитие персонализированных методов лечения болезней печени. Актуальность данной проблемы объясняется острым недостатком донорских органов и сниженной продолжительностью жизни реципиентов после ортотопической трансплантации печени. На сегодняшний день среди альтернативных путей компенсаторной терапии печени стоит выделить следующие биоинженерные подходы: пересадка части органа и клеточных структур, использование аппаратов искусственного диализа и 3D-биопринтинг [1]. В рамках представленной работы мы разрабатываем принципиально новый метод компенсаторной терапии: портативное устройство со сменными пациент-специфичными биокартриджами. Преимущество использования данного устройства состоит в том, что сменный картридж с гепатоцитами не удерживает белковые молекулы, ответственные за тромбогенез, в отличие от полупроницаемой мембраны диализатора, а также в отсутствии иммунного отторжения, возникающего при пересадке органа или его части [2].

На первой стадии разработки был подобран и модифицирован протокол выделения гепатоцитов, основанный на принципе ферментативной перфузии печени, что позволило получить высокоочищенную клеточную культуру [3]. Среднее количество гепатоцитов, выделенных из крысиной печени, составляет ~10 млн клеток из 1 печени крысы. Далее осуществлялся подбор оптимальной подложки с соответствующими адгезивными свойствами. В результате тестирования 8 материалов было установлено, что наиболее подходящей подложкой служит полидиметилсилоксан (ПДМС), покрытый желатином и поликапролактоновыми волокнами. В процессе длительного культивирования шестнадцати первичных культур гепатоцитов, выделенных из лабораторных крыс, было установлено, что клетки нормально функционируют вплоть до 25 дня, и образуют кластерную структуру на волокнах. Наглядным индикатором нормального функционирования гепатоцитов при их длительном культивировании является экспрессия альбумина. Проводился спектрофотометрический анализ растворов, которые накапливали альбумин в течение различного времени, вплоть до 7 дня. Также в рамках работы были проведены острые эксперименты по подключению картриджа параллельно и вместо печени к крысе.

На следующей стадии исследования будут проведены эксперименты по использованию гепатоцитов, выделенных из печени человека, на разработанном прототипе устройства.

Источники и литература

- 1) Lee S. Y., Kim H. J., Choi D. Cell sources, liver support systems and liver tissue engineering: alternatives to liver transplantation //International journal of stem cells. – 2015. – Т. 8. – No. 1. – С. 36.
- 2) Du X. et al. Progress in liver transplant tolerance and tolerance-inducing cellular therapies //Frontiers in Immunology. – 2020. – Т. 11. – С. 1326.
- 3) Shen L. et al. Isolation and primary culture of rat hepatic cells //JoVE (Journal of Visualized Experiments). – 2012. – №. 64. – С. e3917.