

РАЦІОНАЛЬНІ ПАРАМЕТРИ ПОСІВУ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ ОТРИМАННЯ ОПТИМАЛЬНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ЛІКУВАННЯ ТРАВМАТИЧНИХ УШКОДЖЕНЬ СУГЛОБОВОГО ХРЯЩА

Коструб О.О., Поляченко Ю.В., Котюк В.В., Засаднюк І.А., Блонський Р.І.,
Смірнов Д.О.

ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» Київ, Україна

Вступ. За даними різних авторів механічна травматизація суглобового хряща в структурі всіх внутрішньо-суглобових ушкоджень є однією з найвищих та дорівнює 11 – 41 %. Потенціал хондроцитів, щодо загоювання ушкоджень суглобового хряща обмежений. Мезенхімальні стовбурові клітини синовії та кісткового мозку за певних умов можуть брати участь у процесах хондрорепації. Але через складні міжклітинні взаємодії та відсутність оптимальних умов регенерації частіше набуває характеру сполучної тканини чи волокнистого хряща. Сьогодні широко вивчається застосування мезенхімальних стовбурових клітин для відновлення суглобового хряща. Однак нерідко при культивуванні в стандартних умовах ці клітини втрачають свою проліферативну здатність. Раніше було помічено, що клітини проліферують швидше та максимально зберігають мультипотентність, якщо вони проходять через посів із низькою щільністю. Із цих спостережень та даних попередніх досліджень випливає, що необхідно враховувати велику кількість варіацій та параметрів.

Мета дослідження. Визначити оптимальні параметри посіву та культивування мезенхімальних стовбурових клітин.

Матеріали та методи. Мезенхімальні стовбурові клітини сіяли із щільністю 10, 50, 100 та 1000 клітин/см² на культуральний посуд площею 60 см². Проводили щоденний підрахунок клітин.

Результати. Щоденний підрахунок клітин показав, що кількість клітин в культурі із щільністю посіву 10 клітин/см² за 12 днів збільшилась в 500 раз, у той час, як клітин у культурі із щільністю посіву 1000 клітин/см² лише в 30 разів.

Однак, сумарна кількість клітин, які виростили на 60 см² чашки при первинній щільності посіву 1000 клітин/см² складала 1,6 мільйонів клітин, у той час, як при первинній щільності посіву 10 клітин/см² у подібній часті було нараховано 0,3 мільйона клітин. На 7 день не виявлено суттєвої різниці у швидкості росту між культурами клітин посіяними із щільністю 10 та 100 клітин/см². Максимум швидкості подвоєння клітин прийшовся на 4 день. Індекс подвоєння клітин із щільністю посіву 10 та 50 клітин/см² був біля 2,5 за 24 год, що відповідає середньому часу подвоєння на 4 день культивування рівному 10 год. Індекс подвоєння клітин із щільністю посіву 100 чи 1000 клітин/см² був нижче, однак максимум подвоєння клітин спостерігався також на 4 день. Колонієутворюючий потенціал клітин був більший у культурах з більш низькою початковою щільністю посіву.

Також нами визначена залежність між умовами культивування та хондрогенним потенціалом аутологічних мезенхімальних суглобових клітин кісткового мозку. Для визначення хондрогенного потенціалу мезенхімальні суглобові клітини висівали на чашки із щільністю 50 клітин/см² та культивували в стандартному середовищі на протязі 4, 7 та 12 днів з наступним диференціюванням у хондрогенному середовищі протягом 21 дня.

Клітини культивовані в стандартному середовищі на протязі семи днів, формували більші ділянки хряща, ніж клітини культивовані чотири та 12 днів. Крім того, культура із 12- денною преінкубацією давала більші ділянки хряща, ніж культура із чотирьохденною преінкубацією. Наявність екстрацелюлярного матриксу визначали ваговим методом кожної окремої ділянки культивованого хряща. Хрящова тканина, отримана після семиденної преінкубації мала максимальну масу із всіх трьох груп, а при чотирьохденній преінкубації – мінімальну. Таким чином, найкращий хондрогенний потенціал показала семиденна культура.

Висновки. Оптимальною для нарощування маси клітин є первинна щільність посіву 50 клітин/см², а найкращий хондрогенний потенціал виявлено в культурі із семиденною попередньою інкубацією у стандартному середовищі з наступним хондрогенним диференціюванням. Хондрогенне диференціювання культури аутологічних мезенхімальних суглобових клітин кісткового мозку доведено за наявністю в екстрацелюлярному матриксі агрегатів клітин протеогліканів та колагену II типу