

УДК 535.3

КОНТРОЛЬ ИНТЕГРАЦИИ КЛЕТОК В ТКАНЕВЫЕ ТРАНСПЛАНТАТЫ С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Белоусов Н. В.¹, Першуткина С.В.¹, Жердева Л. А.¹, Волова Л. Т.²,
Тимченко Е. В.¹, Тимченко П. Е.¹

¹Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика
С. П. Королёва (национальный исследовательский университет), г. Самара,

²Институт экспериментальной медицины и биотехнологий
Самарского государственного медицинского университета, г. Самара

Для замещения врожденных или приобретённых дефектов костной ткани при реконструктивных операциях используются различные материалы. Активное развитие биотехнологий привело к созданию совершенно новых регенеративных технологий, позволяющих восстанавливать как покровные ткани, так и органы человека с использованием тканевых трансплантатов. При этом одной из важнейших проблем является восстановление костной ткани в зоне замещения. Существует и другая проблема, связанная с внедрением трансплантатов непосредственно в живой организм. Данный процесс может быть сопряжён с возникновением нежелательных эффектов как на местном, так и организменном уровнях: нарушение гомеостаза, возможность отторжения имплантата, плохая его интеграция. Поверхностная структура материала и его пористость в сочетании также влияют на интеграцию клеток. Именно поэтому актуальной задачей становится контроль интеграции клеток в тканевые трансплантаты.

Объектом исследований являлись клеточно-тканевые трансплантаты, изготовленные по технологии ЛИОПЛАСТ (патент №143101 от 30.12.2013).

В качестве основных оптических методов контроля были использованы метод спектроскопии комбинационного рассеяния и метод конфокальной флуоресцентной микроскопии. С помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния был проведён анализ влияния пористости исследуемых трансплантатов на процесс интеграции клеток.

Анализ количества клеток в составе клеточно-тканевых трансплантатов был проведён с помощью метода конфокальной флуоресцентной микроскопии, реализованный на базе инвертированного микроскопа Olympus IX71, конфокального сканера Yokogawa CSU-1 с EMCCD камерой iXon Andor, реализующих метод конфокальной флуоресцентной микроскопии. Для увеличения контраста изображения использовали флуорофор пропидиум йодид. Обработка полученных снимков осуществлялась с помощью программного обеспечения ANDOR IQ. Данная система обеспечивала скорость сканирования до 25 слоёв в секунду с разрешением до 400 нм.

В результате проведённой работы получены следующие результаты:

- Исследована динамика развития клеток в модельной среде. Показано, что клетки имеют значительно большую длину и площадь поверхности, чем в естественной среде (50-100 мкм) и образуют монослой. Вследствие этого в конфокальном режиме изображение имеет низкий контраст (не более 0,2-0,3), не позволяющий идентифицировать внутренние структуры клеток.

- Анализ полученных микроснимков позволяет сделать вывод, что клетки активно интегрируются в трансплантаты, расселяясь преимущественно по его поверхности и формируя «колонии» вблизи выхода пор имплантата на его поверхность. Уже на восьмой день плотность активных клеток составила 500-700 клеток/мм².

- Проведён анализ пористости исследуемых имплантатов на процесс интеграции клеток с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния.