ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СОВМЕСТИМОСТИ ПОРИСТЫХ ПОЛИЛАКТИДНЫХ МАТРИЦ С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

Е.Н.Антонов, А.Н.Коновалов, А.Г.Орлова*, В.К.Попов, А.В. Попова,
Н.М.Шахова*, В.Н.Баграташвили
ИПЛИТ РАН, Троицк Московской обл., *E-mail: e_n_antonov@mail.ru*
*ИПФ РАН, г. Н.-Новгород

Abstract. Method of measurements of cell growing on porous materials using optical coherence microscopy was proposed. Studying of mycelium spread on polylactic acid 3d-scaffolds showed its biocompatibility to the scaffold material.

Введение. Одним из основных требований, предъявляемых к материалам современной тканевой инженерии, является их биологическая совместимость. Поэтому новые биомедицинские материалы проходят многоступенчатое тестирование, одним из этапов которого является исследование реакции на них клеточных культур. После высева культур и периода инкубации, различными методами определяются параметры клеточной активности или степень токсичности материала. Для ряда методов тестирования требуется сложная дополнительная обработка образцов и различные технологические операции. Нами предложена простая и быстрая методика характеризации клеточного отклика на биологические матричные структуры с использованием оптического когерентного микроскопа (ОКМ).

Материалы и методы. Пористые матричные структуры является базовыми элементами современной инженерии костных и хрящевых тканей. Матрицы, размером 3x3x2 мм, были изготовлены из порошка биорезорбируемого полимера, полилатида, методом поверхностно селективного лазерного спекания. Для исследований клеточного отклика на матричный материал использовался оптический когерентный микроскоп ("ОКТ1300-У", ИПФ РАН, г. Нижний Новгород, РФ). Размер исследуемой области составлял 0,83x0,93 мм. Продольное и поперечное разрешение 4 мкм. Время получения одного изображения 4 сек. Исследовался рост мицелиальных грибов *Aspergillius niger* внутри матричных ячеек. Посев мицелиальных грибов производился на агаризированную питательную среду Чапека-Докса. Через сутки на растущий мицелий помещалась матрица, сверху покрытая пленкой для поддержания условий стерильности; чашка с питательной средой закреплялась на столике микроскопа. Сразу же проводилось первое сканирование одной из сквозных ячеек матрицы. Во время всех последующих экспериментов решетка не сдвигалась. Проведено пять сканирований одной и той же ячейки решетки: исходная матрица, ячейка влажной матрицы с растущими внутри нее нитями мицелия через 6 часов, 24 часа, 36 часов и 144 часа.

Результаты и выводы. При увеличении времени инкубации наблюдалось как увеличение слоя мицелия на поверхности матрицы, так и увеличение степени заполнения объема ячейки. Через 6 суток ячейка оказывалась полностью заполнена мицелием, что свидетельствовало о хорошей биологической совместимости мицелия и материала матрицы.

Информация, получаемая с ОКМ, оцифрована. Поэтому, на основе данных сканов легко строятся зависимости распространения клеток по 2 или 3 измерениям. Такие зависимости нами были построены для нескольких участков матрицы. Отмечалась корреляция в динамике роста клеток для этих участков. Таким образом, применение ОКМ позволяет оперативно проводить сравнения роста клеток на пористых образцах, как на поверхности, так и внутри объема. Предложенный метод может быть применен как дополнительный, а в ряде случаев как альтернативный традиционным методам определения клеточной активности.

Данная работа выполнялась при поддержке РФФИ (№04-02-16933, №05-02-08069), Фонда поддержки ведущих научных школ РФ (грант НШ-1633.2002.2) британского фонда The Wellcome Trust (№ 073913).