

УДК 57.085.23, 57.089.67

**КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ КАК ТЕСТ-СИСТЕМЫ
IN VITRO В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ХРЯЩА****Александрова С.А.***Институт цитологии РАН***CELL CULTURES AS IN VITRO TEST SYSTEMS IN PRECLINICAL STUDIES
OF CARTILAGE REGENERATION DRUGS****Aleksandrova S.A.***Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences***Аннотация**

Разработка эффективных лекарств для восстановления хрящевой ткани остается сложной задачей регенеративной медицины. Ограниченная способность хряща к регенерации требует тщательного подбора терапевтических стратегий. В последние годы клеточные культуры стали незаменимым инструментом для изучения механизмов хондрогенеза, скрининга потенциальных хондропротекторов и оценки их безопасности. С помощью тест-систем in vitro на основе клеточных культур исследуются процессы деградации внеклеточного матрикса, воспалительные реакции и регенеративный потенциал различных биологических и фармакологических агентов, значительно сокращая количество экспериментов на животных.

Ключевые слова: клеточные культуры, тест-системы in vitro, клеточные технологии, хрящевая ткань, доклинические исследования, регенеративная медицина.

Abstract

The development of effective drugs for cartilage tissue repair remains a significant challenge in regenerative medicine. Due to the limited self-repair capacity of cartilage, careful selection of therapeutic strategies is essential. In recent years, cell cultures have become an indispensable tool for studying chondrogenesis mechanisms, screening potential chondroprotective agents, and assessing their safety. These in vitro test-systems allow researchers to investigate extracellular matrix degradation, inflammatory responses, and the regenerative potential of various biological and pharmacological agents, significantly reducing the need for animal experiments.

Keywords: cell cultures, test systems in vitro, cell technologies, cartilage tissue, preclinical studies, regenerative medicine.

Ссылка для цитирования: Александрова С.А. Клеточные культуры как тест-системы in vitro в доклинических исследованиях лекарственных препаратов для восстановления хряща // Бюллетень инновационных технологий. – 2025. – Т. 9. – № 3 (35). – С. 71-74. – EDN ODCJXH.

Введение

Дегенеративные изменения хряща развиваются примерно у 80% населения. Среди них остеоартрит является наиболее распространенным заболеванием суставов, поражающим около 240 миллионов человек во всем мире [1]. Несмотря на большое количество различных подходов к лечению суставных патологий, существует мировая необходимость создания более эффективных фармацевтических субстанций, влияющих на процессы репаративной регенерации хряща. В последние годы клеточные культуры стали незаменимым инструментом для изучения механизмов хондрогенеза, скрининга потенциальных хондропротекторов и оценки их безопасности. Использо-

вание тест-систем in vitro на основе клеточных культур дает возможность ускорить изучение безопасности и эффективности потенциальных фармакологических агентов, значительно сокращая количество экспериментов на животных.

В представленной статье основные данные посвящены гиалиновой хрящевой ткани суставов, однако косвенно затрагиваются и другие типы хрящевой ткани. Целью настоящего обзора литературы является дать представление о типах клеточных культур хрящевой ткани, которые в настоящее время используются в качестве тест-систем in vitro.

Первичные культуры.

Первичные культуры хондроцитов, полученные из суставного хряща человека

или животных, считаются наиболее релевантной моделью для доклинических исследований. Эти клетки сохраняют естественный фенотип и способность синтезировать ключевые компоненты внеклеточного матрикса - коллаген II типа, агрекан и гиалуроновую кислоту [2]. Однако работа с ними сопряжена с рядом сложностей. Так, для получения первичных культур исследователи используют образцы хрящевой ткани из коленных или тазобедренных суставов, которые могут быть получены в ходе артропластики или посмертно. В России и многих других странах для работы с человеческим биоматериалом требуется одобрение этического комитета и информированное согласие пациентов. Крупные биобанки, такие как ATCC (American Type Culture Collection) или ECACC (European Collection of Authenticated Cell Cultures), предоставляют стандартизированные образцы, но их ассортимент хрящевых клеток ограничен. Основное ограничение первичных хондроцитов - их склонность к дедифференцировке в монослойных культурах и быстрая потеря хондрогенных свойств. Современные подходы предполагают использование 3D-культивирования в гиалуроновых или коллагеновых матрицах, а также создание гипоксических условий (5% O₂), имитирующих естественную среду суставного хряща [3].

Иммортализованные клеточные линии

Иммортализованные клеточные линии, полученные из трансформированной хрящевой ткани человека и животных, используются, когда требуется проведение масштабных скрининговых исследований. Однако при работе с трансформированными линиями важно учитывать их генетические аномалии, которые могут влиять на результаты экспериментов. Наиболее известной является линия ATDC5, происходящая из хондросаркомы мыши, способная к хондрогенной дифференцировке [4]. Эта линия доступна в японской коллекции RIKEN BRC и широко используется для изучения ранних этапов хондрогенеза. Для моделирования патологии часто применяют линию C28/I2, созданную путем иммортализации ювенильных хондроцитов ребра человека [5]. Эти клетки можно получить из ATCC (CRL-7891) и использовать для исследований остеоартрита, хотя они требуют тщательного контроля за поддержанием хондроцитного фенотипа. Линия SW1353 (ATCC HTB-

94), полученная из хондросаркомы человека, особенно полезна для изучения воспалительных процессов и тестирования противовоспалительных препаратов [6].

Диплоидные культуры мезенхимальных стромальных/стволовых клеток

В последнее десятилетие мезенхимальные стромальные/стволовые клетки (МСК) стали важным объектом исследований в регенеративной медицине хряща. Эти клетки могут быть получены из различных источников, включая костный мозг (наиболее сильный хондрогенный потенциал), жировую ткань (более доступный источник) и Вартонов студень пупочного канатика (молодые, активно пролиферирующие клетки). Современные протоколы дифференцировки МСК в хондроциты постоянно совершенствуются. Например, добавление TGF-β3 вместе с BMP-6 в 3D-культуре существенно улучшает качество получаемой хрящеподобной ткани [7]. Однако остается проблема гипертрофической дифференцировки, когда вместо гиалинового хряща образуется фиброзная или минерализованная ткань.

Системы культивирования клеток in vitro: от 2D к сложным 3D-моделям.

Традиционные монослойные (2D) культуры, несмотря на свою простоту и удобство, плохо воспроизводят сложную организацию хрящевой ткани. В таких условиях хондроциты быстро теряют округлую форму и перестают вырабатывать характерные компоненты матрикса. Современные 3D-системы позволяют преодолеть эти ограничения. Микромассы (pellet culture), где клетки культивируются в виде высокоплотных агрегатов, хорошо подходят для изучения хондрогенной дифференцировки МСК [8]. Более сложные гидрогелевые системы на основе альгината, фибрина или синтетических полимеров позволяют контролировать механические свойства среды, приближая их к нативному хрящу [9].

Особый интерес представляют органоидные системы, сочетающие несколько типов клеток (хондроциты, МСК, синовиоциты) и имитирующие сложные межклеточные взаимодействия [10]. Такие модели особенно полезны для изучения воспалительных процессов при остеоартрите и тестирования комплексных терапевтических подходов.

Некоторые лекарственные препараты, разработанные с использованием клеточных моделей.

Исследования на первичных хондроцитах человека в 3D-культуре показали, что комбинация хондроитин сульфата и глюкозамина не только стимулирует синтез протеогликанов, но и подавляет активность матриксных металлопротеиназ [11]. Эти данные, полученные *in vitro*, были подтверждены в клинических испытаниях, что привело к включению этих веществ в международные рекомендации по лечению остеоартрита.

Использование линии SW1353 для скрининга ингибиторов интерлейкина-1 позволило идентифицировать перспективные соединения, которые затем прошли испытания на более сложных 3D-моделях [12]. Один из таких препаратов - канакинумаб - в настоящее время проходит III фазу клинических испытаний для лечения эрозивного остеоартрита.

Разработка препаратов на основе МСК потребовала создания сложных тест-систем. Исследования на 3D-сфероидах из МСК жировой ткани показали их выраженный противовоспалительный и регенеративный потенциал [13]. На основе этих данных корейская компания JointStem начала клинические испытания клеточного продукта для внутрисуставного введения.

Современные направления разработки хондропротекторов

Современные исследования в области регенерации хряща сосредоточены на нескольких ключевых направлениях:

1. Модуляторы воспаления - разработка препаратов, избирательно подавляющих

провоспалительные цитокины (IL-1 β , TNF- α) без нарушения процессов репарации [14].

2. Стимуляторы стволовых клеток - создание соединений, усиливающих хондрогенную дифференцировку эндогенных МСК (BMP-7 аналоги, малые молекулы) [7].

3. Генная терапия - использование CRISPR/Cas9 и других технологий для коррекции генетических дефектов в хондроцитах [15].

4. Биоматериалы с контролируемым высвобождением - разработка матриц, обеспечивающих постепенную доставку факторов роста и лекарств непосредственно в зону повреждения [9, 16].

Заключение

Клеточные культуры *in vitro* продолжают играть ключевую роль в доклинических исследованиях препаратов для регенерации хряща. Современные тенденции включают переход к более сложным 3D-моделям, сочетающим несколько типов клеток и точно воспроизводящим микроокружение хряща. Особое внимание уделяется стандартизации протоколов и созданию международных биобанков клеточных линий. Будущее разработки хондропротекторов связано с персонализированным подходом, учитывающим индивидуальные особенности пациентов и молекулярные механизмы заболевания.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания FMFU-2024-0008 «Регенераторный потенциал мультипотентных мезенхимных стромальных клеток: паракринная секреция и направленная дифференцировка».

Список литературы

1. Steinmetz R.G., Guth J.J., Matava M.J. et al. Global variation in studies of articular cartilage procedures of the knee: a systematic review // *Cartilage*. – 2022. – Vol. 13, No 2. – P. 19476035221098169. – doi:10.1177/19476035221098169.
2. Gosset M., Berenbaum F., Thirion S., Jacques C. Primary culture and phenotyping of murine chondrocytes // *Nat Protoc*. – 2008. – Vol. 3, No 8. – P. 1253-60. – doi: 10.1038/nprot.2008.95.
3. Caron M.M.J., Emans P.J., Coolen M.M.E. et al. Redifferentiation of dedifferentiated human articular chondrocytes: comparison of 2D and 3D cultures // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2012. – Vol. 20, o. 10. – P. 1170-1178. – doi: 10.1016/j.joca.2012.06.016.

4. Shukunami C., Shigeno C., Atsumi T. et al. Chondrogenic differentiation of clonal mouse embryonic cell line ATDC5 *in vitro*: differentiation-dependent gene expression of parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor // *J. Cell Biol*. – 1996. – Vol. 133, No. 2. – P. 457-468. – doi:10.1083/jcb.133.2.457

5. Goldring M.B., Birkhead J.R., Suen L.-F. et al. Interleukin-1 β -modulated gene expression in immortalized human chondrocytes // *J. Clin. Invest*. – 1994. – Vol. 94, No. 6. – P. 2307-2316. – doi: 10.1172/JCI117595.

6. Choi Y.S., Park J.K., Kang E.H. et al. Cytokine signaling-1 suppressor is inducible by IL-1 β and inhibits the catabolic effects of IL-1 β in chondrocytes: its implication in the paradoxical joint-protective role of IL-1 β // *Arthritis Res Ther*. – 2013. – Vol. 15, No 6:R191. – doi: 10.1186/ar4381.

7. Chen G., Deng C., Li Y.P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation // *Int J Biol Sci.* – 2012. – Vol. 8(2). – P. 272-288. – doi: 10.7150/ijbs.2929.
8. Johnstone B., Alini M., Cucchiari M. et al. Tissue engineering for articular cartilage repair—the state of the art // *Eur Cell Mater.* – 2013. – Vol. 25. – P. 248-267. – doi: 10.22203/ecm.v025a18.
9. Bian L., Guvendiren M., Mauck R.L., Burdick J.A. Hydrogels that mimic developmentally relevant matrix and N-cadherin interactions enhance MSC chondrogenesis // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2013. – Vol. 110, No 25. – P. 10117-10122. – doi: 10.1073/pnas.1214100110.
10. Leijten J., Georgi N., Moreira Teixeira L. et al. Metabolic programming of mesenchymal stromal cells by oxygen tension directs chondrogenic differentiation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2014. – Vol. 111, No. 38. – P. 13954-13959. – doi:10.1073/pnas.1410977111.
11. Bassler C., Rovati L., Franchimont P. Stimulation of proteoglycan production by glucosamine sulfate in chondrocytes isolated from human osteoarthritic articular cartilage in vitro // *Osteoarthritis Cartilage.* – 1998. – Vol. 6, No 6. – P. 427-434. – doi: 10.1053/joca.1998.0146.
12. Wang X., Hunter D.J., Xu J., Ding C. Metabolic triggered inflammation in osteoarthritis // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2015. – Vol. 23, No. 1. – P. 22-30. – doi: 10.1016/j.joca.2014.10.002.
13. Ylöstalo J.H., Bartosh T.J., Coble K., Prockop D.J. Human mesenchymal stem/stromal cells cultured as spheroids are self-activated to produce prostaglandin E2 that directs stimulated macrophages into an anti-inflammatory phenotype // *Stem Cells.* – 2012. – Vol. 30, No. 10. – P. 2283-2296. – doi:10.1002/stem.1191.
14. Dinarello C.A., Simon A., van der Meer J.W. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases // *Nat Rev Drug Discov.* – 2012. – Vol. 11, No 8. – P. 633-652. – doi: 10.1038/nrd3800.
15. Li C., Du Y., Zhang T. et al. "Genetic scissors" CRISPR/Cas9 genome editing cutting-edge biocarrier technology for bone and cartilage repair // *Bioact Mater.* – 2022. – Vol. 22. – P. 254-273. – doi: 10.1016/j.bioactmat.2022.09.026.
16. Armiento A.R., Stoddart M.J., Alini M., Eglin D. Biomaterials for articular cartilage tissue engineering // *Learning from biology. Acta Biomater.* – 2018. – Vol. 65. – P. 1-20. – doi: 10.1016/j.actbio.2017.11.021.

Поступила в редакцию 09.07.2025

Сведения об авторе:

Александрова Светлана Алексеевна – старший научный сотрудник Лаборатории клеточных технологий Центра клеточных технологий ФГБУН «Институт цитологии» РАН (г. Санкт-Петербург, Россия), кандидат биологических наук, e-mail: alekssvet2205@gmail.com



Электронный научно-практический журнал **"Бюллетень инновационных технологий"** (ISSN 2520–2839) является сетевым средством массовой информации регистрационный номер Эл № ФС77-73203 по вопросам публикации в Журнале обращайтесь по адресу bitjournal@yandex.ru