

Заявлений спосіб оцінки впливу фармакологічних сполук на процеси репарації суглобового хряща відноситься до галузі медицини - ревматології, травматології та ортопедії і може бути використаний для оцінки прямого впливу фармакологічних сполук, що застосовуються в терапії остеоартрозу (нестероїдних протизапальних препаратів, хондропротекторів і препаратів системної ензимотерапії) та нових препаратів, що проходять доклінічне випробування, на стромальні клітини кісткового мозку.

Відомий спосіб оцінки впливу сполук на індекс кісткового утворення, [див. заявку Росії № 2004127131, МПК А 61Л 31/147, дата публікації 20.09.2004], який передбачає уведення досліджуваної сполуки у контакт із ствольними клітинами людини, визначення ступеню дифференціровки клітин в кістковоутворюючі клітини за якими судять про вплив сполуки на процес кісткового утворення.

Недоліком способу прототипу є те, що він передбачає оцінку досліджуваної сполуки тільки за показником дифференціровки клітин в кістковоутворюючі клітини що не дає можливості визначити ефективність фармакологічного впливу досліджуваних сполук на процеси репарації суглобового хряща на клітинному рівні.

Завданням корисної моделі є розробка способу оцінки впливу фармакологічних сполук на процеси репарації суглобового хряща в якому шляхом застосування для проведення досліджень нового виду клітин, та емпіричним шляхом підбраного режиму їх культивування разом з досліджуваною сполукою забезпечується можливість визначення впливу досліджуваних сполук на процеси репарації суглобового хряща.

Поставлене завдання вирішується тим, що спосіб передбачає уведення досліджуваної сполуки в контакт із ствольними стромальними клітинами кісткового мозку людини та оцінку впливу сполуки по результатах культивування ствольних клітин з цією речовиною.

Новим у способі є те, що в якості ствольних клітин застосовують ствольні стромальні клітини кісткового мозку людини, культивування здійснюють протягом 14 діб, оцінюють ефективність клонування по співвідношенню кількості колоній, що вирости, до кількості посаджених клітин, на підставі якого оцінюють вплив фармакологічної сполуки на процеси репарації суглобового хряща.

Внаслідок застосування нових ознак способу з'являється можливість визначити ефективність фармакологічного впливу досліджуваних сполук на процеси репарації суглобового хряща на клітинному рівні та розробити ефективні схеми лікування остеоартрозу.

В окремих конкретних варіантах реалізації способу додатково досліджують культуральне середовище на вміст оксипроліну, по вмісту якого роблять висновок про активність процесу синтезу колагену.

Внаслідок застосування таких додаткових ознак способу забезпечується можливість конкретизувати вплив досліджуваних сполук на активність процесу синтезу колагену

В окремих конкретних варіантах реалізації способу додатково досліджують культуральне середовище на вміст лужної фосфатази, по вмісту якої роблять висновок про активність процесів проліферації та дифференціровки остеогенних клітин попередників.

Внаслідок застосування таких додаткових ознак способу забезпечується можливість конкретизувати вплив досліджуваних сполук на активність процесів проліферації та дифференціровки остеогенних клітин попередників.

Спосіб, що заявляється, ілюструється прикладом.

Вирощено 36 культур стромальних фібробластів із епіметафізу великоберцевої кістки. До дослідної групи було включено 27 хворих із остеоартрозом, які розподілялись наступним чином:

1 група (n = 8) - хворі з остеоартрозом;

2 група (n = 6) - хворі з остеоартрозом, досліджувана речовина - хондроїтин сульфат;

3 група (n = 7) - хворі з остеоартрозом, досліджувана речовина - глюкозаміногідрохлорид;

4 група (n = 6) - хворі з остеоартрозом, досліджувана речовина - хондроїтин сульфат + глюкозаміногідрохлорид.

До контрольної групи було включено 9 осіб з гострою травмою.

Визначено, що через 14 діб культивування кількість ядро-містких клітин в $1\text{см}^3 \cdot 10^7$ спонгіози при остеоартрозі (1 група) складає $0,033 \pm 0,001$, що в 3,6 раз менше ніж у контрольній групі ($0,120 \pm 0,030$); кількість колоніє утворюючих одиниць фібробластів (далі КУОф) в 1см^3 спонгіози 10^4 та ефективність клонування КУОф серед 10^5 ядерних клітин - дорівнює нулю; вміст оксипроліну та лужної фосфатази в супернатанті відповідно в 1,6 та в 1,9 рази менше ніж у контролі.

Через 14 діб культивування з хондроїтин сульфатом (2 група) кількість ядромістких клітин в $1\text{см}^3 \cdot 10^7$ спонгіози складає $0,036 \pm 0,006$, що в 3,3 рази менше ніж у контрольній групі; кількість КУОф в 1см^3 спонгіози 10^4 та ефективність клонування КУОф серед 10^5 ядерних клітин відповідно в 2,2 та 2,4 рази менше ніж у контролі; вміст оксипроліну та лужної фосфатази в супернатанті відповідно в 1,6 та 1,5 рази менше контрольних значень.

Через 14 діб культивування з глюкозаміногідрохлоридом (3 група) кількість ядромістких клітин в $1\text{см}^3 \cdot 10^7$ спонгіози складає $0,057 \pm 0,007$, що в 2,1 рази менше ніж у контрольній групі; кількість КУОф в 1см^3 спонгіози 10^4 та ефективність клонування КУОф серед 10^5 ядерних клітин відповідно в 2,6 та 2,3 рази менше ніж в контролі; вміст оксипроліну та лужної фосфатази в супернатанті відповідно в 1,3 та 1,6 рази менше контрольних значень.

Через 14 діб культивування з досліджуваною речовиною - хондроїтин сульфат + глюкозаміногідрохлорид (4 група) кількість ядромістких клітин в $1\text{см}^3 \cdot 10^7$ спонгіози складає $0,075 \pm 0,010$, що в 1,6 рази менше ніж у контрольній групі; кількість КУОф в 1см^3 спонгіози 10^4 та ефективність клонування КУОф серед 10^5 ядерних клітин відповідно в 1,2 та 1,9 рази менше ніж в контролі; вміст в супернатанті оксипроліну статистично достовірно не відрізнявся від контрольних значень, а лужної фосфатази був в 1,3 рази менше ніж у контролі (таблиця 1,2).

По отриманим результатам роблять висновок про ефективність застосування при остеоартрозі комбінації сполук - хондроїтин сульфат + глюкозаміногідрохлорид.

Таблиця 1

Показники остеогенної активності кісткового мозку проксимального епіметафізу великоберцевої кістки (M±m)

Групи	Контроль	1	2	3	4
Кількість ядро містких клітин	$0,120 \pm 0,030$	$0,033^* \pm 0,001$	$0,036^* \pm 0,006$	$0,057^* \pm 0,007$	$0,075^* \pm 0,010$

в 1см ³ спонгіози 10 ⁷					
Кількість КУОф в 1см ³ спонгіози 10 ⁴	0,054±0,0028	0	0,025*±0,0013	0,021* ±0,0015	0,045*±0,0021
Ефективність клонування КУОф серед 10 ⁵ ядерних клітин	1,00 ±0,30	0	0,41*±0,17	0,43*±0,19	0,52*±0,20

Примітка: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2

Біохімічні показники впливу фармакологічних сполук на культуру стоволових стромальних клітин кісткового мозку
(M±m)

Групи	Контроль	1	2	3	4
Оксипролін (%)	3,09 ±0,33	1,90* ±0,30	1,97* ±0,23	2,37* ±0,26	2,81 ±0,29
Лужна фосфатаза (мкмоль/чл)	0,37 ±0,09	0,19* ±0,09	0,25* ±0,07	0,23* ±0,05	0,29* ±0,06

Примітка: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.