

## Культирование мезенхимальных стволовых клеток костного мозга на стеклокристаллических материалах

В.И. Ладыгина<sup>2</sup>, В.В. Киروشка<sup>1</sup>, О.В. Саввова<sup>3</sup>, А.И. Фесенко<sup>3</sup>, Т.П. Бондаренко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

<sup>3</sup>Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»

## Cultivation of Mesenchymal Bone Marrow Stem Cells on Glass-Crystalline Materials

V.I. Ladyhina<sup>2</sup>, V.V. Kiroshka<sup>1</sup>, O.V. Savvova<sup>3</sup>, A.I. Fesenko<sup>3</sup>, T.P. Bondarenko<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

<sup>3</sup>National Technical University 'Kharkiv Polytechnic Institute', Kharkiv, Ukraine

В настоящее время для создания ортопедических и стоматологических имплантов наиболее перспективными являются стеклокристаллические материалы (СКМ) на основе фосфатов кальция с определенным соотношением Ca/P (биостекло, биоактивная керамика и ситаллы).

Цель данной работы – исследование характера распластывания, структурной организации цитоскелета, пролиферации мезенхимальных стволовых клеток костного мозга (МСКМ) крыс при культивировании на поверхности разных по химическому составу СКМ.

В работе были использованы СКМ, полученные на основе кальций-силикофосфатных стекол системы  $\text{Na}_2\text{O} - \text{K}_2\text{O} - \text{Li}_2\text{O} - \text{MgO} - \text{CaO} - \text{ZnO} - \text{ZrO}_2 - \text{TiO}_2 - \text{Al}_2\text{O}_3 - \text{B}_2\text{O}_3 - \text{P}_2\text{O}_5 - \text{SiO}_2$  с разным атомным соотношением элементов Ca/P на поверхности (1,4; 2,58; 5,0). Формирование апатитоподобного слоя на поверхности разработанных материалов проводили *in vitro* в модельном растворе организма (МРО).

Растворимость исследуемых материалов при использовании данного метода определяли по приросту массы в МРО (%) в течение 180 суток при температуре 37°C. Структура актинового цитоскелета клеток была визуализирована с помощью фаллоидина, конъюгированного с TRITC («Синтол», Россия). Для оценки пролиферации использовали МТТ-тест.

Показано, что при выдержке СКМ с соотношением Ca/P (1,4; 2,58; 5,0) в МРО на их поверхности формируется апатитоподобный слой с соотношением Ca/P (0,87; 0,86; 1,6). Установлено, что при культивировании клеток на поверхности СКМ с соотношением Ca/P = 1,6 появлялись их фибробластоподобные формы с равномерным расположением филаментов актинового цитоскелета по всему объему цитоплазмы. В этом случае динамика пролиферации была такой же, как и при культивировании на пластике. При снижении соотношения Ca/P до 0,86–0,87 на поверхности СКМ уменьшалась площадь распластывания и индекс пролиферации (в 2–3 раза) относительно контроля.

Таким образом, физико-химические характеристики структуры поверхности СКМ определяют поведение клетки в условиях культивирования *in vitro*. Образование апатитоподобного слоя с соотношением Ca/P = 1,6 способствовали адгезии, увеличению площади распластывания и пролиферации МСКМ. При снижении соотношения Ca/P на поверхности до 0,8–0,87 в случае формирования осажденных кристаллов фосфата кальция в СКМ уменьшались площадь распластывания и индекс пролиферации МСКМ.

Nowadays the creation of orthopedic and dental implants considers the most promising glass-crystalline materials (GCMs) based on calcium phosphates with a certain ratio of Ca/P such as bioglass, bioactive ceramics and sital.

The research aim was the study of spreading profile, cytoskeleton structure organization, and proliferation of bone marrow mesenchymal stromal cells (BMMSC) during culturing on the GCMs surfaces with different chemical composition.

In this study we have used the GCMs derived from calcium silicophosphate glasses containing  $\text{Na}_2\text{O} - \text{K}_2\text{O} - \text{Li}_2\text{O} - \text{MgO} - \text{CaO} - \text{ZnO} - \text{ZrO}_2 - \text{TiO}_2 - \text{Al}_2\text{O}_3 - \text{B}_2\text{O}_3 - \text{P}_2\text{O}_5 - \text{SiO}_2$  with different atomic proportions of the elements Ca/P on the surface (1.4; 2.58; 5.0). The formation of apatite-like layer on the surface of the derived materials was determined in model medium *in vitro*.

Solubility of the studied materials when using this method was found on a mass gain in model medium (%) during 180 days at 37°C. The structure of actin cytoskeleton in cells was visualized using fluorescent TRITC-conjugated phalloidin (Sintoll, Russia). Cell proliferation was assessed using MTT-test.

It was shown that incubation of GCMs with the ratio of Ca/P (1.4; 2.58; 5.0) in model medium resulted in the apatite-like layer formation with the ratio of Ca/P (0.87; 0.86; 1.6), respectively. It has been established that the cells' cultivation on the GCMs surface with the ratio Ca/P = 1.6 led to appearance of fibroblast-like cells with uniformly distributed actin cytoskeleton filaments within cytoplasm. In this case, proliferation dynamics was similar to the one under cultivation on plastic. Reduced Ca/P ratio of the surfaces of GCMs down to 0.86–0.87 resulted in the decreased spreading area and proliferation index (to 2–3 times) relatively to the control.

Collectively physical and chemical characteristics of GCM surface structure were the main factors, determining cell behavior during culturing *in vitro*. Formation of hydroxyapatite-like layer with the ratio Ca/P = 1.6 contributed to the increasing adhesion, area of spreading and proliferation of MBMSC. The decrease of Ca/P ratio down to 0.86–0.87 in case of the formation on the GCMs of precipitation calcium phosphate crystals on the GCMs led to the reduction of the spreading spreadind area and the proliferation index of BMMSC.

