

Остеогенез и ангиогенез в сфероидах из мультипотентных мезенхимных стромальных клеток человека

Научный руководитель – Кошелева Настасья Владимировна

Ревокатова Дарья Петровна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра эмбриологии, Москва, Россия

E-mail: dusik.97@mail.ru

В настоящее время при создании биоэквивалентов для реконструкции дефектов костной ткани основным фактором, лимитирующим регенерацию, остается недостаток васкуляризации. Поэтому исследование *in vitro* взаимодействий остео и ангиогенеза в эмбриогенезе представляется актуальным. При совместном 2D культивировании эндотелиальных прогениторных клеток и остеогенных предшественников - мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК), происходит более ранняя дифференцировка клеток в обоих направлениях [1]. Однако в условиях трехмерной культуры данные процессы остаются малоизученными. Компактная упаковка клеток внутри сфероидов способствует образованию специфического микроокружения и более эффективной дифференцировке [2]. В данной работе были изучены сфероиды после индукции как в ангиогенном и остеогенном направлении, а также при единовременной индукции. На 7, 14, 21 сутки после индукции сфероиды анализировали методом иммуноцитохимии на наличие специфических маркеров ангиогенеза (Flk1, CD31) и остеогенеза (остеокальцин, остеоопонтин, коллаген-1). Неиндуцированные сфероиды обладали способностью к частичному спонтанному остеогенезу, однако содержание дифференцированных клеток было ниже, чем при индукции. Двойная индукция заметно увеличивала синтез остеогенных маркеров уже на 7 сутки и, в особенности, на 21 сутки. Уровень синтеза остеокальцина возрастал к 21 суткам во всех группах. Методом ПЦР в реальном времени был показан низкий уровень экспрессии генов остеоидифференцировки, таких как BMP2, Runx2 и Col-1 на 1 и 7 сутки и присутствие экспрессии Osterix на 7 сутки во всех 4-х группах. Экспрессия CD34 выше при ангиоиндукции, но присутствует также и при остеоиндукции. Значимых отличий в экспрессии ангиогенных маркеров при двойной и ангиогенной индукции выявлено не было.

Создание тканеинженерных конструкций с использованием сфероидов из ММСК жировой ткани человека, индуцированных в ангиогенном и остеогенном направлении открывает новые перспективы получения биоэквивалентов васкуляризованных фрагментов костной ткани *in vitro* для эффективного восстановления крупных дефектов костной ткани.

Источники и литература

- 1) Gurel, Gorke, Gamze Torun, and Vasif Hasirci. In F1 Uence of Co-Culture on Osteogenesis and Angiogenesis of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Aortic Endothelial Cells // Microvascular Research. 2016, №108. p. 1–9.
- 2) Yamaguchi, Yuichiro, Jun Ohno, Ayako Sato, Hirofumi Kido, and Tadao Fukushima. Mesenchymal Stem Cell Spheroids Exhibit Enhanced In-Vitro and in-Vivo Osteoregenerative Potential // BMC Biotechnol. 2014, №105 (14). p. 1–10.