

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА С ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИМИ КОМПОЗИЦИОННЫМИ МАТЕРИАЛАМИ

Ю. А. Петренко¹
Н. А. Волкова¹
В. Ф. Куцевляк²
В. И. Куцевляк³
А. Ю. Петренко^{1,4}

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

²Харьковский государственный медицинский университет

³Харьковская медицинская академия последипломного образования

⁴ГП «Межведомственный научный центр криобиологии и криомедицины НАН, НАМН, МОЗ Украины»

E-mail: yuripetrenko@cryo.org.ua

Получено 03.11.2011

Разработка гибридных биоэквивалентов костной ткани с использованием подходов тканевой инженерии является одним из актуальных направлений современной биотехнологии. В работе исследовали биосовместимость ряда остеопластических композиционных материалов, разрешенных для клинического применения, с мезенхимными стромальными клетками жировой ткани *in vitro*. Показано, что присутствие губок «Колапол», гранул OssaBase®-HA и Bio-Oss® в среде культивирования не влияет на жизнеспособность и метаболическую активность клеток, а губки «Стимул-Осс» оказывают токсическое действие. При заселении губок «Колапол», гранул OssaBase®-HA и Bio-Oss® мезенхимные стромальные клетки жировой ткани прикрепляются к поверхностям носителя, распластываются и пролиферируют в ходе культивирования, что свидетельствует о перспективности применения этих материалов для разработки биоинженерных конструкций с использованием мезенхимных стромальных клеток жировой ткани для восстановления костных дефектов в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии.

Ключевые слова: мезенхимные стромальные клетки жировой ткани, остеопластические материалы, биосовместимость, тканевая инженерия.

Традиционным методом восстановления объемных костных дефектов, в частности в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии, является трансплантация аутологичной либо аллогенной костной ткани. Несмотря на достоинства и распространенность, этот подход не является универсальным и имеет определенные ограничения. Новые возможности в восстановлении костных дефектов могут предоставить биоинженерные конструкции на основе использования носителей (скаффолдов, матриц) природного или синтетического происхождения, заселенных живыми клетками пациента, среди которых наиболее перспективными могут считаться мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК). МСК обладают высоким пролиферативным потенциалом и способностью вступать в дифференцировку в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях [1, 2].

Наиболее распространенным источником получения МСК для аутологичного применения в настоящее время является костный мозг, хотя они могут быть выделены и из других тканей взрослого человека — жировой [1, 3, 4] и мышечной [5], синовиальной мембраны [6], дермы [7], периферической [8] и кордовой [9, 10] крови и др. Жировая ткань (ЖТ) обладает рядом преимуществ перед другими источниками МСК, включая костный мозг. Среди них в первую очередь можно выделить минимальную инвазивность процедуры получения, высокое содержание клеток-предшественников и возможность получать материал в количествах, достаточных для трансплантации. Установлено, что мезенхимные стромальные клетки жировой ткани (МСК ЖТ) взрослого человека по пролиферативным и дифференцировочным свойствам мало отличаются от МСК костного мозга [1, 3, 11].

Эффективность формирования костной ткани с использованием подходов тканевой инженерии зависит не только от особенностей заселяемых клеток, но и от свойств поддерживающей матрицы [12]: биосовместимости, механических параметров, адгезивности, способности поддерживать пролиферацию эксплантированных клеток *in vitro* и *in vivo*, а также их вступление в дифференцировку [13]. В настоящее время в челюстно-лицевой хирургии в качестве остеопластического материала применяют ряд природных и синтетических соединений, таких как коллагены, гидроксиапатиты, полимеры молочной и гликолевой кислот, неорганические полимеры на основе трикальцийфосфата, а также комбинации перечисленных компонентов. Каждый из этих материалов имеет свои положительные и отрицательные свойства, поэтому использование конкретного биоматериала в качестве клеточного носителя всегда является ситуацией выбора. Особое внимание при этом следует уделять способности матриц-носителей к поддержанию адгезии и пролиферации клеток, а также обеспечению их трехмерной ориентации. Наше внимание привлекли комбинированные соединения, которые используются для остеопластики в стоматологии и травматологии, в частности губки на основе гидроксиапатита и коллагена «Колапол» (Полистом, Россия) и «Стимул-Осс» (Белкозин, Россия), а также гранулы на основе естественного неорганического костного матрикса, полученного из бычьей кости Bio-Oss® (Geistlich, Германия) и синтетические гранулы на основе гидроксиапатита OssaBase®-HA (LASAK Ltd, Чехия). Все перечисленные остеопластические препараты зарегистрированы в Украине и разрешены для клинического применения. Среди приведенных остеопластических материалов наиболее изученными с точки зрения их использования в качестве носителей для МСК являются гранулы Bio-Oss® [14, 15]. Вместе с тем большинство работ проведено на МСК, выделенных из тканей животных, и вопросы, касающиеся изучения поведения МСК человека, остаются недостаточно изученными.

Цель настоящего исследования — изучение биосовместимости ряда остеопластических материалов с мезенхимными стромальными клетками жировой ткани человека *in vitro* для оценки возможности использования этих материалов при разработке биоинженерных конструкций костной ткани для челюстно-лицевой хирургии и стоматологии.

Материалы и методы

Выделение и культивирование клеток

Жировую ткань получали в результате хирургического удаления жировых отложений у взрослых пациентов с соблюдением норм врачебной этики после информированного письменного согласия. Ткань измельчали и подвергали ферментативной обработке коллагеназой 2-го типа (Sigma-Aldrich, США). МСК ЖТ получали с применением метода, описанного нами ранее [16].

Культивирование выделенных адгезивных клеток проводили в питательной среде α -MEM (РАА, Австрия), дополненной эмбриональной сывороткой крупного рогатого скота (ЭС, РАА, Австрия), 2 mM L-глутамин, 50 ед/мл пенициллина и 50 мг/мл стрептомицина при 37 °C и 5% CO₂ в условиях 95% -й влажности в течение трех-четырёх пассажей со сменой среды 2 раза в неделю. После достижения клетками 70% конфлюэнтного монослоя их пассировали с применением смеси трипсин–версен (1:4) и рассеивали в культуральные флаконы с коэффициентом 1:3. Для дальнейших исследований использовали клетки 4-го пассажа.

Иммунофенотипические исследования

Для оценки иммунофенотипа клетки трипсинизировали по стандартной методике и окрашивали в течение 30 мин FITC- или PE-конъюгированными моноклональными антителами CD29-PE (Serotec), CD34-FITC (Dako), CD44-FITC (BD Biosciences), CD45-PE (Serotec), CD73 (BD Biosciences), CD105 (Serotec). После двукратной отмывки в фосфатном буфере иммунофенотип клеток определяли на проточном цитометре FACS Calibur (BD Biosciences, Великобритания). Полученные данные анализировали с использованием программы WinMDI v. 2.8.

Заселение носителей

Перед заселением носители тщательно промывали физиологическим раствором, после чего насыщали средой культивирования. Заселение МСК ЖТ проводили с использованием двух методик в зависимости от структуры матрицы. Для заселения гранул Bio-Oss® и OssaBase®-HA суспензию МСК ЖТ с концентрацией 10⁵ клеток в 1 мл среды вносили в пробирки, содержащие гранулы носителя, и инкубировали при постоянном перемешивании на вортекс-миксере со скоростью 700–1 000 об/мин в течение 90 мин при 37 °C, после чего пробирки переносили в CO₂-инкубатор на 24 ч. Для заселения пористых губок «Колапол» и «Стимул-Осс» на их поверхность с помощью автоматической пипетки наносили 100 мкл концентрированной

суспензии МСК ЖТ (10^5 клеток в 100 мкл среды). Губки с клетками инкубировали 3 ч в CO_2 -инкубаторе в стандартных условиях, после чего переносили в лунки 24-луночного планшета, содержащие по 1 мл среды культивирования. В качестве контроля такое же количество МСК ЖТ помещали в условия монослойного культивирования.

Оценка метаболической и пролиферативной активности МСК ЖТ с использованием Alamar Blue

Для оценки метаболической и пролиферативной активности МСК ЖТ, заселенных в трехмерные носители, использовали индикатор Alamar Blue (AB, Serotec), интегрально отражающий уровень окислительно-восстановительных процессов в клетках [17]. Для этого после 24 ч культивирования заселенные клетками матрицы переносили в лунки 24-луночного планшета со средой культивирования, содержащей 10% AB, и инкубировали в этих условиях в течение 2 ч при 37 °C. Затем среду отбирали и определяли в ней уровень восстановленности AB с использованием планшетного спектрофлуориметра Tecan GENios (Tecan, Австрия) при волне возбуждения 550 нм и эмиссии 590 нм. Данные представляли как разность опытной и холостой (без клеток) проб и выражали в условных единицах флуоресценции (УЕФ). Аналогично определяли уровень восстановленности AB через 7 сут культивирования.

Оценка жизнеспособности клеток

Жизнеспособность и морфологические особенности МСК ЖТ оценивали с использованием двойного окрашивания клеток флуоресцеиндиацетатом (FDA) и этидиумбромидом (EB). Для этого МСК, культивированные в монослое или в составе носителей, инкубировали в течение 10 мин в растворе Хенкса, содержащем FDA (2 мкг/мл) и EB (4 мкг/мл), после чего клетки отмывали и исследовали под флуоресцентным микроскопом SETI EpiFluor (SETI, Бельгия) [18].

Оценка распределения жизнеспособных клеток в носителях

Для интегральной оценки локализации и распределения клеток в носителях использовали индикатор МТТ. Принцип его работы основан на способности митохондриальных дегидрогеназ восстанавливать желтую соль 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) до нерастворимых кристаллов формазана темно-фиолетового цвета, которые накапливаются в цитоплазме живых клеток. Для проведения МТТ-теста на 7-е сутки культивирования заселенные

носители инкубировали в среде, дополненной раствором МТТ (Sigma-Aldrich, 5 мг/мл), в течение 3 ч при 37 °C, после чего среду удаляли, а носители переносили в бесцветный солевой раствор Хенкса и исследовали с помощью стереомикроскопа при увеличении в 40 раз.

Статистическая обработка

Полученные результаты обрабатывали статистически при помощи пакета программ Origin 7.5. Данные оценивали, используя параметрический критерий Стьюдента, и выражали в виде $M \pm m$. Статистически достоверными считали различия при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Для оценки принадлежности стромальных клеток, выделенных из жировой ткани человека, исследовали экспрессию поверхностных маркеров методом проточной цитометрии. Установлено, что более 95% клеток после монослойного культивирования в течение четырех пассажей были позитивны по мезенхимальным маркерам CD29, CD44, CD73, CD105. При этом в клетках отсутствовала экспрессия гемопоэтических маркеров CD34⁺ и CD45⁺. Такой иммунофенотипический профиль был описан рядом авторов для МСК, выделенных из различных источников [1–9].

На первом этапе работы исследовали влияние остеопластических материалов на жизнеспособность МСК ЖТ при совместном монослойном культивировании в течение 24 ч. В отсутствие материалов все клетки после прикрепления и распластывания позитивно окрашивались FDA. Клеток, окрашенных EB, выявлено не было. При помещении в культуральную среду гранул OssaBase[®]-HA и Bio-Oss[®], а также широкопористой губки «Колапол» все клетки оставались жизнеспособными. При этом было отмечено, что образованный при расщеплении внутриклеточными эстеразами флуоресцеин равномерно распределяется в цитоплазме клеток, что позволяет определять их морфологические особенности с использованием флуоресцентного микроскопа. При помещении в среду культивирования губок «Стимул-Осс» были обнаружены поврежденные клетки, ядра которых окрашивались EB, в норме не проникающим в клетки.

Характер влияния исследуемых материалов на жизнеспособность клеток при витальном окрашивании FDA/EB подтверждался результатами, полученными с использованием Alamar Blue-теста при оп-

ределении метаболической активности МСК ЖТ после их заселения в носители. Установлено, что через 24 ч после заселения трехмерных матриц уровень восстановления АВ различался в зависимости от применяемого носителя (рис. 1).

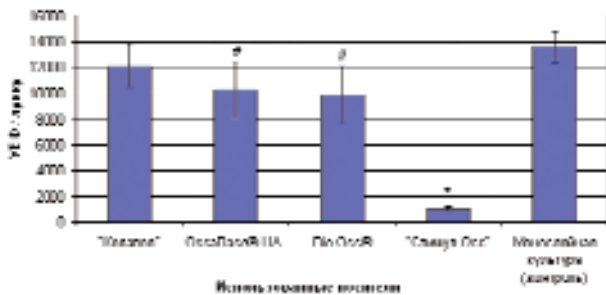


Рис. 1. Уровень восстановления Alamar Blue клетками через 24 ч после заселения в носители:
* — достоверные отличия с другими группами ($P < 0,05$);

— достоверные отличия с контрольной группой (монослойная культура, $P < 0,05$).

Из рис. 1 следует, что клетки, заселившие широкопористые губки «Колопол», а также гранулы OssaBase®-HA и Bio-Oss®, были способны восстанавливать АВ, причем показатели флуоресценции АВ клетками как в составе губок «Колопол», так и в/на гранулах OssaBase®-HA и Bio-Oss® отличались друг от друга незначительно и составляли 12126 ± 1727 УЕФ, 10268 ± 2118 УЕФ и 9833 ± 2231 УЕФ соответственно. При этом уровень восстановленности АВ в губках «Колопол» не отличался от контрольной группы, где МСК ЖТ находились в условиях монослойного культивирования, в то время как при культивировании клеток на гранулах этот показатель был несколько ниже, что, вероятно, связано с потерей части клеток при заселении гранул. Клетки, заселенные в трехмерную губку «Стимул-Осс», проявляли незначительную метаболическую

активность, которая составляла менее 10% от уровня контроля. Снижение метаболической активности вплоть до гибели МСК ЖТ при заселении в губки «Стимул-Осс», очевидно, связаны с присутствием в этом коммерческом продукте хлоргексидина и формальдегида, обладающих выраженным токсическим действием и требующих специальных условий удаления перед работой с живыми клетками.

Морфология и распределение МСК ЖТ в носителях

В ходе прижизненного изучения жизнеспособности МСК ЖТ с помощью FDA было установлено, что образовавшийся в результате клеточного метаболизма флуоресцеин равномерно распределен в цитоплазме клеток. Это свойство было использовано для оценки формы клеток и плотности заселения ими носителей.

Форма и локализация МСК ЖТ через 7 сут культивирования в губках «Колопол» и на поверхности гранул приведены на рис. 2.

Во всех случаях МСК ЖТ прикреплялись и распластывались на поверхностях трехмерных матриц, имели фибробластоподобную морфологию, характерную для мезенхимных стромальных клеток. Исследования морфологических особенностей клеток в составе губки «Колопол» (рис. 2, А) показали, что МСК ЖТ практически целиком заполняли внешние поверхности пор матрицы, формируя трехмерную клеточно-полимерную структуру.

Для более объективной оценки локализации клеток внутри и на поверхности носителей использовали индикатор метаболической активности клеток МТТ (рис. 3).

На рис. 3 представлены микрофотографии заселенных носителей, полученные на 7-е сут культивирования. Видно, что в губке «Стимул-Осс» (рис. 3, Б) не наблюдалось позитивного окрашивания МТТ, что

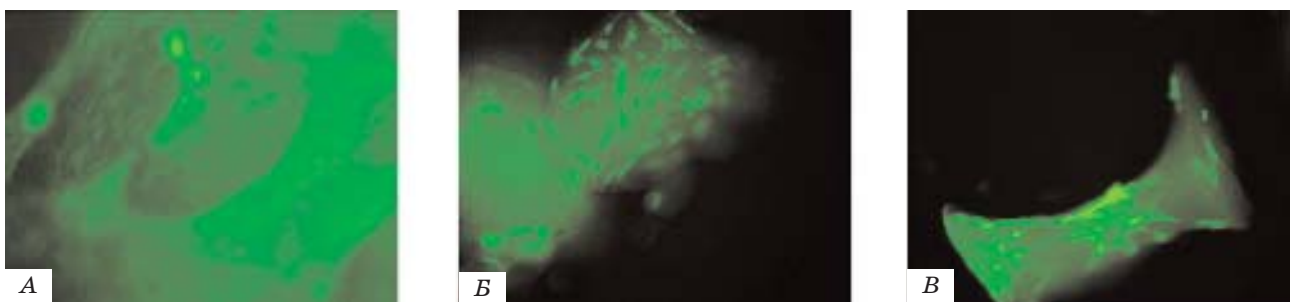


Рис. 2. Флуоресцентная микроскопия мезенхимных стромальных клеток жировой ткани, окрашенных FDA, через 7 сут культивирования в составе губки «Колопол» (А), на гранулах OssaBase®-HA (Б) и Bio-Oss® (Б). ×40

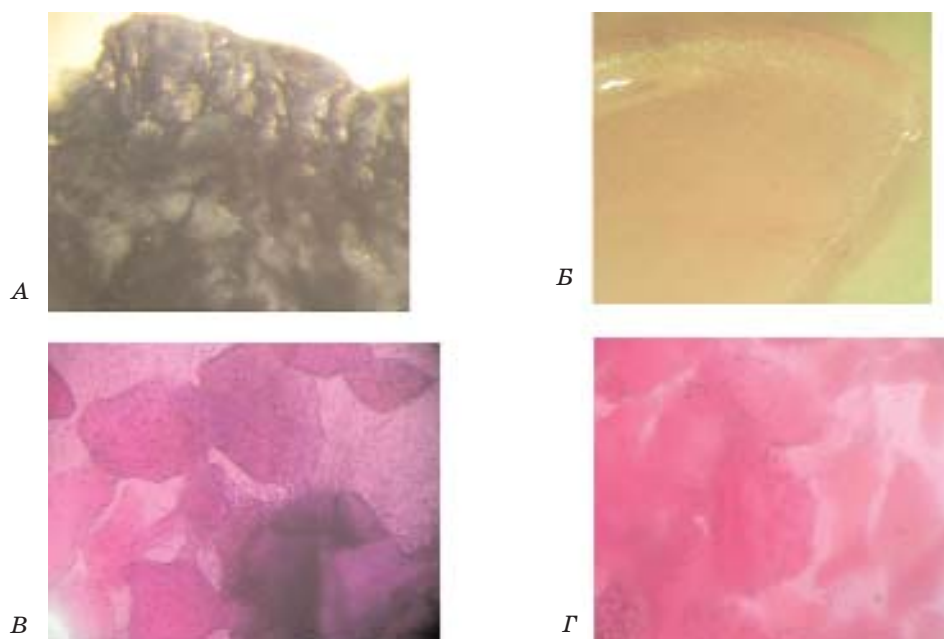


Рис. 3. Распределение мезенхимных стромальных клеток жировой ткани в носителях через 7 сут культивирования, выявленное с использованием МТТ-теста:
 А — губка «Колапол», Б — губка «Стимул-Осс», В — гранулы OssaBase®-НА, Г — гранулы Bio-Oss®. ×40

свидетельствует, с одной стороны, об отсутствии в составе носителя жизнеспособных клеток, а с другой — о высокой специфичности использованного метода.

Результаты в остальных группах подтвердили ранее полученные данные с использованием окрашивания FDA и свидетельствуют о сохранении жизнеспособности и метаболической активности МСК ЖТ через 7 сут культивирования в составе остеопластических материалов. При оценке распределения и локализации клеток с помощью МТТ-теста в составе носителей установлено, что наиболее полноценно МСК ЖТ распределялись в объеме губок «Колапол» (рис. 3, А), что проявлялось в практически полном их заполнении гранулами формазана. На поверхности гранул клетки распределялись менее однородно. Так, при анализе материала Bio-Oss® было выявлено, что не все гранулы включали окрашенные МТТ клетки. Вместе с тем были и гранулы, практически полностью заселенные МСК ЖТ. Подобная картина наблюдалась и с гранулами OssaBase®-НА, однако их заселение клетками было более интенсивным. Эти данные свидетельствуют о гетерогенности коммерческих остеопластических гранул по адгезивным свойствам своих поверхностей.

Исследования, проведенные с помощью FDA- и МТТ-тестов, свидетельствуют о том, что губки «Колапол» являются более эффек-

тивным носителем МСК ЖТ, по-видимому, за счет присутствия в их составе большего количества коллагена и широкопористой структуры. Для более углубленного изучения поведения клеток в этом носителе оценивали пролиферативную активность МСК ЖТ с помощью АВ-теста (рис. 4).

Из рис. 4 следует, что через 7 сут культивирования МСК ЖТ в составе губок «Колапол» уровень восстановленной формы АВ достоверно увеличивался по сравнению с 1-ми сут в 1,9 раза и составлял $23\,498 \pm 1\,623$ УЕФ,

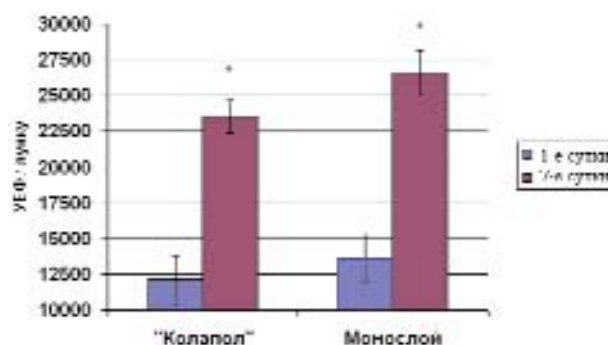


Рис. 4. Восстановление Alamar Blue (УЕФ) мезенхимными стромальными клетками жировой ткани человека на 1- и 7-е сут культивирования в составе губок «Колапол» или в условиях монослоя.

* — Показатели достоверно отличаются от данных, полученных на 1-е сут культивирования ($P < 0,05$)

что свидетельствует о пролиферации клеток внутри носителя. При этом показатели достоверно не отличались от МСК ЖТ, культивированных в условиях монослоя ($26\ 578 \pm 1\ 574$ УЕФ).

Результаты настоящей работы показали, что губки «Колапол», а также гранулы OssaBase®-НА и Bio-Oss® нетоксичны для мезенхимных стромальных клеток. Клетки адгезируют к их поверхностям, распластываются, проявляют метаболическую и пролиферативную активность при объемном культивировании в течение, по крайней мере, 7 сут.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zuk P. A., Zhu M., Ashjian P. et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells // *Mol. Biol. Cell.* — 2002. — V. 13, N 12. — P. 4279–4295.
2. Pittenger M. F., Mackay A. M., Beck S. C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // *Science.* — 1999. — V. 284, N 5411. — P. 143–147.
3. Zuk P. A., Zhu M., Mizuno H. et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell based therapies // *Tissue Eng.* — 2001. — V. 7, N 2. — P. 211–228.
4. Guilak F., Lott K. E., Awad H. A. et al. Clonal analysis of the differentiation potential of human adipose derived adult stem cells // *J. Cell. Physiol.* — 2006. — V. 206, N 1. — P. 229–237.
5. Jackson W. M., Nesti L. J., Tuan R. S. Potential therapeutic applications of muscle-derived mesenchymal stem and progenitor cells // *Expert Opin. Biol. Ther.* — 2010. — V. 10, N 4. — P. 505–517.
6. De Bari C., Dell'Accio F., Tylzanowski P., Luyten F. P. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane // *Arthr. Rheum.* — 2001. — V. 44, N 8. — P. 1928–1942.
7. Crigler L., Kazhanie A., Yoon T-J. et al. Isolation of a mesenchymal cell population from murine dermis that contains progenitors of multiple cell lineages // *FASEB J.* — 2007. — V. 21, N 9. — P. 2050–2063.
8. Kuznetsov S. A., Mankani M. H., Gronthos S. et al. Circulating skeletal stem cells // *J. Cell Biol.* — 2001. — V. 153, N 3. — P. 1133–1140.
9. Gang E. J., Hong S. H., Jeong J. A. et al. In vitro mesengenic potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2004. — V. 321, N 1. — P. 102–108.
10. Toupadakis C. A., Wong A., Genetos D. C. et al. Comparison of the osteogenic potential of equine mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, umbilical cord blood, and umbilical cord tissue // *Am. J. Vet. Res.* — 2010. — V. 71, N 10. — P. 1237–1245.
11. Gimble J., Guilak F. Adipose-derived adult stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential // *Cytherapy.* — 2003. — V. 5, N 5. — P. 362–369.
12. Киселева Е. В., Черняев С. Е., Васильев А. В. и др. Перспективы использования стволовых клеток в реконструкции черепно-лицевого скелета // *Стоматология.* — 2009. — Т. 4. — С. 77–81.
13. Tuan R. S., Boland G., Tuli R. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering // *Arthr. Res. Ther.* — 2003. — V. 5, N 1. — P. 32–45.
14. Muller A. M., Mehrkens A., Schafer D. J. et al. Towards an intraoperative engineering of osteogenic and vasculogenic grafts from the stromal vascular fraction of human adipose tissue // *Eur. Cell Mater.* — 2010. — V. 19. — P. 127–135.
15. Gutwald R., Haberstroh J., Kuschnierz J. et al. Mesenchymal stem cells and inorganic bovine bone mineral in sinus augmentation: comparison with augmentation by autologous bone in adult sheep // *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* — 2010. — V. 48, N 4. — P. 285–290.
16. Петренко А. Ю., Петренко Ю. А., Скоробогатова Н. Г. и др. Выделение, фенотипические и дифференцировочные свойства стромальных клеток-предшественников, выделенных из жировой ткани при монослойном культивировании // *Журн. АМН України.* — 2008. — Т. 14, № 2. — С. 354–365.
17. Petrenko Y. A., Gorokhova N. A., Tkachova E. N., Petrenko A. Y. The reduction of Alamar Blue by peripheral blood lymphocytes and isolated mitochondria // *Ukr. Biokhim. Zh.* — 2005. — V. 77, N 5. — P. 100–105.
18. Dankberg F., Persidsky M. D. A test of granulocyte integrity and phagocytic function // *Cryobiology.* — 1976. — V. 13, N 4. — P. 430–432.

**БІОСУМІСНІСТЬ МЕЗЕНХІМНИХ
СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН
ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ЛЮДИНИ
З ОСТЕОПЛАСТИЧНИМИ
КОМПОЗИЦІЙНИМИ МАТЕРІАЛАМИ**

Ю. О. Петренко¹
Н. О. Волкова¹
В. Ф. Куцевляк²
В. І. Куцевляк³
О. Ю. Петренко^{1,4}

¹Інститут проблем кріобіології та кріомедицини
НАН України, Харків

²Харківський державний медичний університет

³Харківська медична академія
післядипломної освіти

⁴ДП «Міжвідомчий науковий центр
кріобіології та кріомедицини НАН, НАМН,
МОЗ України»

E-mail: yuripetrenko@cryo.org.ua

Розроблення гібридних біоеквівалентів кісткової тканини з використанням підходів тканинної інженерії є одним з актуальних напрямів сучасної біотехнології. У роботі досліджували біосумісність низки остеопластичних композиційних матеріалів, що дозволені до клінічного застосування, з мезенхімними стромальними клітинами жирової тканини *in vitro*. Показано, що присутність губок «Колапол», гранул OssaBase[®]-HA і Bio-Oss[®] у середовищі культивування не впливає на життєздатність і метаболічну активність клітин, а губки «Стимул-Осс» мають токсичну дію. Під час заселення губок «Колапол», гранул OssaBase[®]-HA і Bio-Oss[®] мезенхімні стромальні клітини жирової тканини прикріплюються до поверхні носія, розпластуються і проліферують у процесі культивування, що свідчить про перспективність застосування цих матеріалів для розроблення біоінженерних конструкцій із використанням мезенхімних стромальних клітин жирової тканини для відновлення кісткових дефектів у щелепно-лицьовій хірургії та стоматології.

Ключові слова: мезенхімні стромальні клітини, остеопластичні матеріали, біосумісність тканинна інженерія.

**BIOCOMPATIBILITY OF HUMAN ADIPOSE
TISSUE MESENCHYMAL STROMAL
CELLS WITH OSTEOPLASTIC COMPOSITE
MATERIALS**

Yu. O. Petrenko¹
N. O. Volkova¹
V. F. Kutseviak²
V. I. Kutseviak³
O. Yu. Petrenko^{1,4}

¹Institute for Problems of Cryobiology
and Cryomedicine of National Academy
of Sciences of Ukraine, Kharkiv

²Kharkiv State Medical University

³Kharkiv Medical Academy of Postgraduate
Education

⁴State Enterprise «Interdepartmental Research
Center of Cryobiology and Cryomedicine,
of National Academy of Sciences of Ukraine,
National Academy of Medical Sciences
of Ukraine, Ministry of Health of Ukraine»

E-mail: yuripetrenko@cryo.org.ua

The development of hybrid bone tissue bioequivalents with the application of tissue engineering approaches is one of the promising trends of current biotechnology. Biocompatibility of osteoplastic composite materials, which were approved for clinical application with adipose tissue mesenchymal stromal cells (AT MSC) *in vitro* was studied. It is shown that the presence of «Colapol» sponges, as well as OssaBase[®]-HA and Bio-Oss[®] granules did not affect the viability and metabolic activity of cells, whereas «Stimul-Oss» had toxic effect. After seeding into «Colapol» sponges, as well as OssaBase[®]-HA and Bio-Oss[®], granules AT MSC adhered to the scaffold surfaces, confirming the application potential of these materials for the development of AT MSC based bioengineered constructs for the reconstruction of bone defects in facial-cranial surgery and dentistry.

Key words: adipose tissue mesenchymal stromal cells, osteoplastic materials, biocompatibility, tissue engineering.