

## **ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СРЕД НА ПАРАМЕТРЫ ОСТЕОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРАХ ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИХСЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК**

М. В. Черноруцкий, М. Б. Белякова, Н. В. Костюк

*ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России*

Цель исследования: изучить связь между активностью щелочной фосфатазы (ЩФ) в среде культивирования, растворимым кальцием (РК) и направлением дифференцировки клеток в культуре с разным составом среды.

Материалы и методы: использовались первичные культуры мезенхимных стромальных клеток (МСК) животных, неиндуцированные или индуцированные на адипогенную или остеогенную дифференцировку стандартными индуцирующими добавками (гормоны или бета-глицерофосфат), содержащиеся на средах ДМЕМ (среда Игла модифицированная по способу Дульбекко) с добавлением фетальной телячьей или бычьей сыворотки. Верификация индукции производилась окрашиванием красителями нильским синим-ORO (на накопление липидов) или толуидиновым синим (на образование гликозаминогликанов). Анализ на активность ЩФ проводился кинетическим методом, количественное определение РК – ортокрезолфталеиновым методом.

Результаты: при приготовлении питательной среды ДМЕМ вносится 1,8 мМ на 1 л хлорида кальция, однако при тесте на РК обнаружено, что среда ДМЕМ содержит 0,7-0,8 мМ РК, при добавлении сывороток количество РК возрастает несущественно. После приготовления комплексной питательной среды активность ЩФ при внесении фетальной сыворотки оказалась в 3 раза ниже, чем при внесении бычьей. При культивировании клеток индукция адипогенной дифференцировки в среде с фетальной сывороткой приводит к связыванию РК и к его снижению в среде. Адипогенная индукция не

сказывается на уровне ЩФ в среде по сравнению с контролем. Однако индукция в среде с бычьей сывороткой, осуществляемая этими же гормонами, увеличивает РК. При остеогенной индукции РК возрастает, что можно объяснить образованием однозамещенных фосфатов в индуцирующей среде, богатой органическим фосфатом, причем при остеогенной индукции ЩФ возрастает на 20%. При культивировании активно пролиферирующих клеток на среде с фетальной сывороткой кальций потребляется незначительно, и РК даже может увеличиваться. ЩФ в средах, где шло культивирование на фетальной сыворотке, растет в 1,5-2,0 раза при активной пролиферации культуры, что коррелирует с увеличением РК.

Выводы: РК может существенно повышаться при активной пролиферации культуры МСК, а также при адипогенной и остеогенной индукции на средах с бычьей сывороткой. Повышение активности ЩФ сопровождает пролиферацию и остеогенную индукцию. Таким образом, сочетание повышения ЩФ и РК может служить индикатором активной пролиферации или остеогенной индукции и негативным контролем адипогенной индукции