

[Biotech Histochem.](#) 2015 Aug 19:1-13

Özdamar Kurt F1, Tuğlu I, Vatanserver H, Tong S, Deliloğlu-Gürhan S.

The effect of autologous bone marrow stromal cells differentiated on scaffolds for canine tibial bone reconstruction

Bone marrow contains mesenchymal stem cells that form many tissues. Various scaffolds are available for bone reconstruction by tissue engineering. Osteoblastic differentiated bone marrow stromal cells (BMSC) promote osteogenesis on scaffolds and stimulate bone regeneration. We investigated the use of cultured autologous BMSC on different scaffolds for healing defects in tibiae of adult male canines. BMSC were isolated from canine humerus bone marrow, differentiated into osteoblasts in culture and loaded onto porous ceramic scaffolds including hydroxyapatite 1, hydroxyapatite gel and calcium phosphate. Osteoblast differentiation was verified by osteonectin and osteocalcin immunocytochemistry. The scaffolds with stromal cells were implanted in the tibial defect. Scaffolds without stromal cells were used as controls. Sections from the defects were processed for histological, ultrastructural, immunohistochemical and histomorphometric analyses to analyze the healing of the defects. BMSC were spread, allowed to proliferate and differentiate to osteoblasts as shown by alizarin red histochemistry, and osteocalcin and osteonectin immunostaining. Scanning electron microscopy showed that BMSC on the scaffolds were more active and adhesive to the calcium phosphate scaffold compared to the others. Macroscopic bone formation was observed in all groups, but scaffolds with stromal cells produced significantly better results. Bone healing occurred earlier and faster with stromal cells on the calcium phosphate scaffold and produced more callus compared to other scaffolds. Tissue healing and osteoblastic marker expression also were better with stromal cells on the scaffolds. Increased trabecula formation, cell density and decreased fibrosis were observed in the calcium phosphate scaffold with stromal cells. Autologous cultured stromal cells on the scaffolds were useful for healing of canine tibial bone defects. The calcium phosphate scaffold was the best for both cell differentiation in vitro and bone regeneration in vivo. It may be possible to improve healing of bone defects in humans using stem cells from bone marrow.

Účinek autologních kmenových buněk z kostní dřeně diferencovaných na nosiči pro rekonstrukci holenní kosti psa

Kostní dřeň obsahuje mezenchymální kmenové buňky, které tvoří mnoho tkání. V tkáňovém inženýrství existuje několik různých nosičů pro rekonstrukci kosti. Osteoblastické diferencované kmenové buňky z kostní dřeně (BMSC-Bone Marrow Stem Cells) podporují na nosiči osteogenezi a stimulují regeneraci kosti. V této studii byly zkoumány kultivované autologní BMSC na různých nosičích pro léčbu defektů holenní kosti dospělých psů. BMSC byly izolovány z kostní dřeně odebrané z pažní kosti psa, následně byly buňky v kultuře diferencovány do osteoblastů a naneseny na porézní keramický nosič včetně hydroxyapatitu 1, hydroxyapatitového gelu a fosforečnanu vápenatého. Diferenciace osteoblastů byla ověřena imunocytochemicky přítomností osteonektinu a osteokalcinu.

Nosič s kmenovými buňkami byl implantován do tibiálního defektu. Jako kontrola byly použity nosiče bez kmenových buněk. Řezy z kostních defektů byly zpracovány pro histologické, ultrastrukturní, imunohistochemické a histomorfometrické analýzy, aby bylo zjištěno, jaká je úspěšnost zhojení.

BMSC byly rozšířeny a jak ukázala histochemická analýza alizarinovou červení a imuno-barvení osteokalcinu a ostonektinu, byly tyto buňky schopné proliferace a diferenciaci do osteoblastů. Skenovací elektronová mikroskopie ukázala, že v porovnání s ostatními jsou BMSC aktivnější na nosiči a více adherují k nosiči s fosforečnanem vápenatým. Ve všech skupinách byla pozorována makroskopická tvorba kosti, nicméně buňky na nosiči měly podstatně lepší výsledky. Hojení kosti proběhlo dříve a rychleji u kmenových buněk kultivovaných na nosiči s fosforečnanem vápenatým, kde ve srovnání s jinými nosiči byla pozorována větší produkce kalusu. Zhojení tkáně a exprese osteoblastických markerů byla opět lepší u kmenových buněk kultivovaných na nosiči. Zvýšená trabekulární formace, hustota buněk a snížená fibróza byly zjištěny u kmenových buněk kultivovaných na nosiči s fosforečnanem vápenatým.

Pro zhojení defektů psí holenní kosti byly autologní kmenové buňky kultivované na nosiči užitečné. Nosič s fosforečnanem vápenatým byl nejlepší jak pro diferenciaci buněk *in vitro*, tak pro regeneraci kosti *in vivo*. Tento způsob léčby by mohl zlepšit regeneraci kostních defektů i v humánní medicíně za použití kmenových buněk z kostní dřevě.
