

Причина толерантности инкапсулированных мезенхимальных стромальных клеток к краткосрочному хранению

Д.Н. Тарусин, В.В. Муценко, В.С. Зайков

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Cause of Encapsulated Mesenchymal Stromal Cells Tolerance to Short-Term Storage

D.N. Tarusin, V.V. Mutsenko, V.S. Zaikov

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

Инкапсуляция в альгинатные микросферы (АМС) является перспективным подходом клеточной биотехнологии, тканевой инженерии и трансплантологии. Ранее было установлено, что инкапсуляция в альгинатные микросферы способствовала сохранению клетками жизнеспособности в процессе хранения при положительных температурах. Однако причины этого влияния остаются не изученными.

Цель данной работы – изучение влияния инкапсуляции в альгинатные микросферы на метаболическую активность и дифференцировочный потенциал мезенхимальных стромальных клеток (МСК).

Мезенхимальные стромальные клетки, в составе АМС и в виде суспензии, хранили при 4, 22 и 37°C в герметично закрытых пробирках, содержащих 1 мл культуральной среды. Жизнеспособность МСК определяли по МТТ-тесту. В данной работе был выполнен сравнительный анализ метаболической активности и дифференцировочного потенциала МСК дермы человека в составе АМС и в виде монослоя в процессе их культивирования. Метаболическую активность определяли по тесту с AlamarBlue (АВ). Для оценки митохондриального потенциала использовали флуоресцентный краситель JC-1. Дифференцировочный потенциал оценивали после индукции клеток в остеогенном и адипогенном направлениях.

Инкапсуляция МСК в АМС предотвращала агрегацию и позволяла сохранить жизнеспособность при 37 и 22°C на уровне 60–85% до 3-х суток инкубации, а также приводила к снижению метаболической активности клеток. Так, через 2 ч культивирования интенсивность флуоресценции восстановленной формы АВ в группе инкапсулированных МСК была на 28,3% ниже, чем в группе с монослоем МСК. Митохондриальный потенциал инкапсулированных МСК был ниже, чем у монослойной культуры МСК. При этом после высвобождения МСК из АМС и последующего монослойного культивирования клетки сохраняли способность к мультилинейной дифференцировке.

Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что одной из причин устойчивости инкапсулированных в альгинатные микросферы МСК к повреждающим факторам краткосрочного хранения является снижение метаболической активности, при этом инкапсуляция не оказывает влияния на их дифференцировочный потенциал.

Encapsulation into alginate microspheres (AMSs) is a promising approach in cell biotechnology, tissue engineering and transplantation. Previously it was found that encapsulation in alginate microspheres contributed to maintain cell viability during storage at positive temperatures. However, the mechanism of this effect is still unclear.

The aim of this work was to study the effect of encapsulation in alginate microspheres on the metabolic activity and differentiation potential of mesenchymal stromal cells (MSCs).

Encapsulated MSCs were stored at 4°C, 22°C and 37°C in sealed tubes containing 1 mL of culture medium. Cell viability was determined by MTT-test. In this study we compared metabolic activity and differentiation potential of human dermal mesenchymal stromal cells stored in AMSs and cultured in a monolayer. Metabolic activity was measured by AlamarBlue (AB) test. Fluorescent dye JC-1 was used to assess mitochondrial potential. Differentiation potential was evaluated after cells induction to osteogenic and adipogenic directions.

Encapsulation of MSCs in AMS prevented their aggregation and allowed to preserve the viability at the level of 60–85% up to 3 days of incubation at 37 and 22°C. Metabolic activity of the cells decreased. In particular, the fluorescence intensity of the AB reduced form in the group of encapsulated MSCs after 2 hrs of culture was 28.3% lower if compared to the group of MSCs monolayer culture. Mitochondrial potential of encapsulated MSCs was lower versus the MSCs monolayer culture. The MSCs maintained the ability for multilineage differentiation after release from AMSs and subsequent monolayer culture.

The results of this work indicate that a reason, why MSCs encapsulated in alginate microspheres tolerate short-term storage, could be their reduced metabolic activity, moreover, encapsulation has no effect on their differentiation potential.

