

Локализация и метаболическая активность мезенхимальных стромальных клеток в альгинатных микросферах с твердым и жидким ядром

Ю.В. Немировская¹, Д.Н. Тарусин²

¹Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, г. Харьков

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Localization and Metabolic Activity of Mesenchymal Stromal Cells Within Solid and Liquid Core Alginate Beads

Yu.V. Nemyrovska¹, D.M. Tarusin²

¹V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Science, Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Инкапсуляция мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в альгинатные микросферы (АМС) является перспективным направлением биотехнологии, тканевой инженерии и регенеративной медицины. Известно, что МСК в составе АМС на протяжении длительного периода культивирования сохраняют несвойственную им сферическую форму. В настоящее время возрастает интерес к технологии коаксиальной инкапсуляции («игла в игле»), позволяющая получать АМС с жидким ядром. При этом изучение формы и свойств МСК в составе таких микросфер остается актуальным.

Цель работы – сравнение локализации и метаболической активности мезенхимальных стромальных клеток в альгинатные микросферы с твердым и жидким ядром.

Эксперименты проводили на МСК дермы взрослого человека. Для инкапсуляции в АМС с твердым ядром МСК смешивали с 2%-м раствором альгината натрия с его последующим покапельным внесением в 2%-й раствор CaCl_2 . Альгинатные микросферы с жидким ядром получали методом коаксиальной инкапсуляции. В качестве раствора для формирования внутреннего ядра использовали культуральную среду с суспензией клеток. Полимеризацию АМС с жидким ядром осуществляли как описано выше для АМС с твердым ядром. Полученные АМС культивировали в стандартных для МСК условиях. Форму получаеых АМС, а также распределение и локализацию МСК в них оценивали с использованием световой микроскопии. Жизнеспособность МСК оценивали комбинированным окрашиванием флуоресцентными красителями FDA/EB. Метаболическую активность МСК определяли с помощью Alamar Blue теста (AB).

Определены основные параметры для получения АМС с жидким ядром. Наибольшее влияние на структуру формируемых АМС оказывали скорости выдавливания жидкостей. В составе АМС с твердым ядром МСК были равномерно распределены в объеме гидрогеля и сохраняли сферическую форму. МСК в составе АМС с жидким ядром распределялись компактно и в течение 3-х суток культивирования формировали клеточные сфероиды. Сфероиды МСК в составе АМС демонстрировали зеленое свечение при окрашивании FDA/EB, что свидетельствует об их жизнеспособности. Интенсивность флуоресценции восстановленной формы AB в группе МСК в составе АМС с жидким ядром была на 27% выше, чем в группе АМС с твердым ядром.

Таким образом, МСК в составе АМС с твердым и жидким ядром имеют разное распределение и метаболическую активность.

Encapsulation of mesenchymal stromal cells (MSCs) into alginate microspheres (AMS) is a promising area of biotechnology, tissue engineering and regenerative medicine. It is known that MSCs in the composition of AMS over a long period of cultivation retain their unusual spherical shape. Currently, the interest in technology of coaxial encapsulation ('needle in needle') allowing to AMS with a liquid core is increasing. Herewith the study of the shape and properties of the MSCs in the composition of these microspheres with a liquid core has remained relevant.

The purpose of this work was to compare the localization and metabolic activity of mesenchymal stromal cells in alginate microspheres with solid and liquid core.

The experiments were performed with adult dermis MSCs. To encapsulate into the AMS with a solid core the MSCs were mixed with 2% solution of sodium alginate and afterwards with its following drop-by-drop introduction into a 2% solution of CaCl_2 . AMS with liquid core were obtained by the method of coaxial encapsulation. As a solution for forming the inner core, culture medium with a cell suspension was used. Polymerization of AMS with a liquid core was carried out as described above for AMS with a solid core. The obtained AMSs were cultured under standard MSC conditions. The shape of AMS, as well as distribution and localization of MSCs in them were assessed using light microscopy. The viability of MSCs was estimated by combined staining with fluorescent dyes FDA/EB. The metabolic activity of MSCs was determined using Alamar Blue test (AB).

The main parameters for obtaining the AMS with a liquid core were determined. The greatest influence on the structure of the formed AMS was provided by the speed of extruding liquids. Part of the AMS with a solid core MSCs were uniformly distributed in the volume of the hydrogel and retained a spherical shape. The MSCs in the composition of AMS with liquid core were distributed compactly and within 3 days of culturing, they formed cell spheroids. Spheroids of MSCs as components of AMS demonstrated green fluorescence during staining with FDA/EB, indicating their viability. The fluorescence intensity of the reduced AB in the group of MSCs as components of AMS with a liquid core was 27% higher versus the group of AMS with a solid core.

Thus, the MSCs as a component of AMS with a solid and liquid core have various allocations and metabolic activity.

