

Некоторые подходы к криоконсервированию региональных стволовых клеток

А.Ю. ПЕТРЕНКО, Ю.А. ПЕТРЕНКО, Н.Г. СКОРОБОГАТОВА, Н.А. ГОРОХОВА, В.П. ГРИШУК
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Some Approaches to Cryopreservation of Regional Stem Cells

A.YU. PETRENKO, YU. A. PETRENKO, N.G. SKOROBOGATOVA, N.A. GOROKHOVA, V.P. GRISCHUK
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Экспериментальные исследования региональных стволовых клеток (РСК) свидетельствуют о перспективности их использования в регенеративной медицине для восстановления функции органов и тканей, утраченной или подавленной в результате наследственной или приобретенной патологии. В связи с этим разработана и усовершенствована методика криоконсервирования, создание низкотемпературных банков этих клеток позволят обеспечить запас тестированного и сертифицированного материала для трансплантации пациентам.

В докладе обобщен опыт авторов по криоконсервированию первичных и субкультивированных суспензий региональных стволовых клеток плодов и взрослого человека.

Для повышения эффективности криоконсервирования РСК на основе медленного программного замораживания использовали несколько подходов: математическое моделирование отдельных этапов криоконсервирования, модификацию состава криозащитных сред и сред отмывки клеток от криопротектора, инициацию кристаллообразования на этапе охлаждения.

Показано, что включение в состав криозащитных сред, содержащих ДМСО, таких непроницающих соединений, как сахароза или высокомолекулярный полиэтиленгликоль (ПЭГ-8000), позволяет повысить эффективность криоконсервирования, снизить концентрацию проникающего криопротектора и исключить иммуногенные компоненты, в частности сыворотку.

Сравнительное изучение влияния криоконсервирования на свойства первичных и субкультивированных суспензий РСК свидетельствует о более высокой чувствительности свежeweделенных клеток к переохлаждению, развивающемуся на этапе замораживания.

С учетом перспективности использования РСК в биоинженерных конструкциях тканей и биогибридных органах, технология криоконсервирования которых должна исключать кристаллизацию раствора, приведены результаты экспериментов по разработке витрификационных сред, способов их введения и удаления, токсичности и эффективности.

Приведенные в работе данные свидетельствуют о том, что конечный результат криоконсервирования региональных стволовых клеток во многом определяется выбором использованного подхода, зависит от источника клеток и их исходного состояния (жизнеспособности, культивирования).

Experimental researches of regional stem cells (RSCs) testify to the perspective of their application in regenerative medicine for the recovery of organ and tissues function, lost or arrested as the result of inherent or gained pathology. Therefore the development and modernization of cryopreservation methods, establishing of low temperature banks of these cells enable to provide the reserve of tested and certified material for transplantation of patients.

In the paper the experience of the authors in cryopreservation of initial and sub-cultured suspensions of regional stem cells of fetuses and adults is summarised.

For increasing the efficiency of RSCs cryopreservation based on slow program freezing some approaches were used: mathematical modeling of isolated stages of cryopreservation, modification of content cryoprotective media and the ones of cell washing out of cryoprotectant, initiation of crystal formation at cooling stage. It has been shown that inclusion in to the content of cryoprotective media, containing DMSO, of nonpenetrating compounds such as sucrose or highmolecular polyethylene glycol (PEG-8000), enables to increase the cryopreservation efficiency, reduces the concentration of penetrating cryoprotectant and excludes immunogenic components, especially serum.

Comparative study of cryopreservation effect on properties of initial and sub-cultured suspensions of RSCs testifies to higher sensitivity of freshly-isolated cells to supercooling, developing at freezing stage.

Due to RSCs application perspective in bioengineered constructions of tissues and biohybrid organs, which cryopreservation technology must exclude solution crystallization, the results of experiments for developing of vitrification media, methods of their injection and extraction, toxicity and efficiency are shown.

The data shown in the work testify to the final result of cryopreservation of regional stem cells is mainly determined with selection of used approach, dependence on cell source and their initial state (viability, culturing).