

# Культирование и дифференцировка мезенхимальных стромальных клеток в составе скаффолдов на основе скелетов морских губок *Ianthella basta*

В.В. Муценко, Е.Ю. Рогульская, Ю.А. Петренко

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Cultivation and Differentiation of Mesenchymal Stromal Cells within the Scaffolds Based on Skeletons Derived from the Marine Sponge *Ianthella basta*

V.V. Mutsenko, O.Yu. Rogulska, Yu.A. Petrenko

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

Одним из ключевых аспектов при создании тканеинженерных конструкций является подбор скаффолдов, обеспечивающих образование биоэквивалента соответствующей ткани *in vitro* и биосовместимость, а также терапевтический потенциал *in vivo*. В качестве клеточной составляющей тканеинженерных конструкций наиболее перспективными являются мезенхимальные стромальные клетки (МСК), обладающие высоким пролиферативным потенциалом и уникальной способностью к мультилинейной дифференцировке.

Недавно впервые была показана возможность получения скаффолдов на основе альфа-хитина из морских губок *Ianthella basta* отряда *Verongida*. Однако до настоящего времени перспективность применения скелетов морских губок на основе альфа-хитина в тканевой инженерии исследована не была.

Цель исследования – оценка *in vitro* морфологических и функциональных свойств МСК в условиях долгосрочного культивирования в составе скаффолдов на основе скелетов морской губки *I. basta*.

Скаффолды из скелетов морских губок *I. basta* получали путем кислотно-щелочного гидролиза и заселяли МСК с помощью перфузионного метода. Морфологию и распределение клеток в составе скаффолдов оценивали окрашиванием азур-эозином. Метаболическую активность клеток определяли по МТТ-тесту, а также анализировали дифференцировочный потенциал клеток после индукции в остеогенном и адипогенном направлениях окрашиванием Fast Blue и масляным красным соответственно.

После очистки скелетов *I. basta* были получены плоские скаффолды с макропористой структурой, состоящие из хитиновых поперечносплетенных фибрилл. В условиях трехмерного культивирования клетки распластывались на поверхности хитиновых тяжей, пролиферировали, сохраняли метаболическую активность и фибробластоподобную морфологию. Через 3 недели культивирования на поверхности скаффолдов формировался непрерывный слой клеток, которые под действием соответствующих индукторов дифференцировались в остеогенном и адипогенном направлениях.

Таким образом, скелеты морской губки *I. basta* представляют собой новый перспективный источник скаффолдов, которые могут найти применение в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

One of the key aspects in the process of tissue-engineered construct designing is a selection of scaffolds providing formation of corresponding tissue bioequivalents *in vitro* and biocompatibility as well as a therapeutic potential *in vivo*. As the most perspective cell constituents of tissue-engineered constructions the mesenchymal stromal cells (MSC) which have a high proliferative potential and the unique multilineage differentiation capability can be considered.

Recently the feasibility of obtaining scaffolds based on alpha-chitin from the sea sponges *Ianthella basta* of the order *Verongida* has been shown for the first time. However, to date the application prospect of sea sponges skeletons based on alpha-chitin in tissue engineering has not been investigated.

The aim of this study was to evaluate *in vitro* the morphological and functional properties of MSC during long-term culturing within the scaffolds based on the skeletons derived from the marine sponge *I. basta*.

Scaffolds from sea sponges *I. basta* skeletons were obtained by acid-base hydrolysis and seeded with MSC by the perfusion method. Cell morphology and distribution within the scaffolds was assessed by azure-eosin staining. Metabolic activity of MSC was estimated by MTT-test. Differentiation potential of cells was assessed after induction into osteogenic and adipogenic directions by alkaline phosphatase expression and Oil Red staining of intracellular lipids, respectively.

After purification procedure plane scaffolds with macroporous structure consisting of chitinous cross-linked fibrils were produced. Under 3D culture conditions the cells spreaded on the surfaces of chitinous fibers, proliferated, maintained metabolic activity and fibroblast-like morphology. After 3 weeks of culture cell sheet was formed on the surface of the scaffolds. Under influence of corresponding inductors cells differentiated into osteogenic and adipogenic directions.

Thus, skeletons derived from the marine sponge *I. basta* represent the new perspective source of scaffolds, which can find application in tissue engineering and regenerative medicine.

