

**Влияние гипотермического хранения в различных средах  
на жизнеспособность и метаболическую активность мезенхимальных  
стромальных клеток в составе альгинатных микросфер**

Д.Н. Тарусин, В.С. Зайков, В.В. Муценко, Ю.А. Петренко

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

**Effect of Hypothermic Storage in Various Media on Viability and Metabolic Activity  
of Human Mesenchymal Stromal Cells in Alginate Microspheres**

D.N. Tarusin, V.S. Zaikov, V.V. Mutsenko, Yu.A. Petrenko

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

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК), инкапсулированные в альгинатные микросферы (АМС), находят все более широкое применение в регенеративной медицине и трансплантологии. В связи с этим актуальным вопросом является разработка простых и эффективных способов краткосрочного хранения и транспортировки МСК в составе АМС.

Цель данной работы – изучение влияния гипотермического хранения в различных средах на жизнеспособность и метаболическую активность МСК в составе АМС.

Мезенхимальные стромальные клетки в виде суспензии и инкапсулированные в АМС хранили в составе различных сред: культуральная среда, сахарозо-содержащий раствор (ССР) и University of Wisconsin solution (UW) при 4°C в герметично закрытых криопробирках. После хранения альгинатные микросферы растворяли и клетки культивировали в стандартных условиях. Жизнеспособность определяли по МТТ-тесту и способности клеток адгезировать на культуральный пластик после суточного монослойного культивирования. Метаболическую активность МСК оценивали по интенсивности флуоресценции восстановленной формы редокс-индикатора AlamarBlue (АВ).

При хранении МСК в виде суспензии в составе сред ССР и UW на протяжении 3-х суток жизнеспособность и метаболическая активность оставались на уровне 80–90%, а на 7-е сутки снижались до 55–75%. При аналогичных условиях хранения инкапсуляция МСК в АМС не способствовала существенному сохранению клетками жизнеспособности и метаболической активности независимо от сроков инкубации. В то же время хранение суспензии и инкапсулированных МСК при 4°C в составе культуральной среды приводило к значительному снижению жизнеспособности и метаболической активности на 3-и сутки инкубации, что вероятно связано с непригодностью использования культуральной среды для гипотермического хранения данных клеток.

Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что для гипотермического хранения МСК как в виде суспензии, так и инкапсулированные в АМС, целесообразно использовать среды внутриклеточного типа; при этом разработанный в ИПКиК НАН Украины сахарозо-содержащий раствор продемонстрировал такую же эффективность, как и UW.

Mesenchymal stromal cells (MSCs), encapsulated into alginate microspheres (AMS), are being increasingly applied in transplantation and regenerative medicine. In this regard, an important issue is to develop simple and effective methods of short-term storage and transportation of the MSCs in AMS.

The aim of this work was to study the effect of hypothermic storage in various media on viability and metabolic activity of MSCs in AMS.

MSCs in suspension and encapsulated into AMS were stored in various media: culture medium, sucrose-based solution (SBS) and the University of Wisconsin solution (UW) at 4°C in sealed cryovials. After storage, the alginate microspheres were dissolved and the cells were cultured at standard conditions. The viability was determined by MTT assay and the ability of cells to adhere to the culture plastic after daily monolayer culture. Metabolic activity of MSCs was evaluated by fluorescence intensity of the reduced form of the redox-indicator AlamarBlue (AB).

Storage of MSCs in suspension in SBS and UW media for 3 days resulted in preserving a viability and metabolic activity at the level of 80–90%, and after 7 days the indices decreased down to 55–75%. Under the same storage conditions, the encapsulation of MSC into AMS did not contribute to the preservation of a significant cell viability and metabolic activity, regardless of the incubation time. At the same time, storage of the suspension and encapsulated MSCs at 4°C in the culture medium led to a significant decrease in the viability and metabolic activity at day 3 of incubation, probably due to the unsuitability of the culture medium for hypothermic storage of the cells.

The results of this work indicate that hypothermic storage of the MSCs either as a suspension, or encapsulated in AMS could be performed in the media of the intracellular type; the developed at IPC&C sucrose-based solution showed the same efficiency as the UW.

