

**Устойчивость мезенхимальных стромальных клеток, инкапсулированных в альгинатные микросферы, к краткосрочному хранению при положительных температурах**

Д.Н. Тарусин, В.С. Зайков, В.В. Муценко, Ю.А. Петренко  
*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

**Resistance of Mesenchymal Stromal Cells Encapsulated in Alginate Microspheres to Short-Term Storage at Positive Temperatures**

D.N. Tarusin, V.S. Zajkov, V.V. Mutsenko, Y.A. Petrenko  
*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine  
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine*

Инкапсуляция мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в альгинатные микросферы (АМС) – перспективное направление клеточной биотехнологии, тканевой инженерии и трансплантологии. В связи с этим актуальным вопросом является разработка новых методов хранения МСК в составе АМС.

Целью данной работы было изучить устойчивость МСК, инкапсулированных в альгинатные микросферы, к краткосрочному хранению при положительных температурах.

Для хранения МСК, инкапсулированных в АМС, использовали герметично закрытые пробирки, содержащие 1 мл культуральной среды. Температура составляла 4, 22 и 37°C. После хранения альгинатные микросферы растворяли 1%-м раствором цитрата натрия, затем клетки культивировали в монослой. Жизнеспособность МСК определяли по МТТ-тесту. Метаболическую активность МСК оценивали по степени восстановления редокс-индикатора AlamarBlue (AB). Коэффициент клеточной адгезии определяли путем подсчета не прикрепившихся клеток после суточного монослойного культивирования.

В процессе хранения МСК в виде суспензии при всех температурных режимах наблюдалось быстрое снижение жизнеспособности и степени восстановления АВ. Так, на 2-е сутки инкубации жизнеспособность МСК составляла 50–60%, а метаболическая активность 40–60%. Более длительные сроки хранения сопровождались агрегацией клеток. Инкапсуляция МСК в АМС предотвращала агрегацию и позволяла сохранить жизнеспособность и метаболическую активность при 37 и 22°C на уровне 60–85% до 3-х суток инкубации. Высокие показатели жизнеспособности сохранялись вплоть до 7-х суток хранения. В то же время при хранении инкапсулированных МСК при 4°C не выявлено существенных различий в показателях сравниваемых клеток. Можно предположить, что низкие показатели жизнеспособности и метаболической активности МСК в условиях хранения при 4°C объясняются непригодностью культуральной среды для гипотермического хранения.

Установлено, что инкапсуляция МСК в АМС сопровождалась снижением степени восстановления АВ в 3 раза. Эти результаты могут свидетельствовать о том, что причиной устойчивости МСК в процессе хранения при положительных температурах является снижение метаболической активности при инкапсуляции в АМС.

Encapsulation of mesenchymal stromal cells (MSCs) in alginate microspheres (AMS) is a promising direction of cell biotechnology, tissue engineering and transplantology. In this regard the important issue is the development of new methods of storing MSCs in the AMS.

The aim of this work was to study the resistance of MSCs encapsulated in alginate microspheres to short-term storage at positive temperatures.

Encapsulated MSCs were stored at 4, 22 and 37°C in sealed tubes containing 1 ml of culture medium. After storage, the alginate microspheres were dissolved in 1% sodium citrate solution and the cells were cultured in monolayer. Viability was determined by MTT-test. Metabolic activity of MSCs was evaluated by the reduction of the redox indicator AlamarBlue (AB). Cell adhesion was determined by counting non-adhered cells after 24 hrs monolayer culture.

The storage of the MSCs in suspension at all the temperatures resulted in a rapid decrease in viability and the AB reduction level. On the 2<sup>nd</sup> day of incubation, the viability of MSCs was 50–60%, while the metabolic activity comprised 40–60%. Longer storage has been accompanied by cell aggregation. Encapsulation of MSCs in AMS prevented cell aggregation and allowed to preserve the viability and metabolic activity at 37 and 22°C in the 60–85% range for up to 3 days of incubation. High rates of viability remained until the 7<sup>th</sup> day of storage. However, the storage of MSCs at 4°C revealed no significant differences between encapsulated and non-encapsulated cells. We can assume that the low level of metabolic activity and viability of MSCs during storage at 4°C can be associated with the unsuitability of the culture medium for hypothermic storage.

It was established, that the encapsulation of MSCs in AMS was accompanied by the 3 times decrease in the AB reduction degree. These results may indicate that the resistance of the MSCs during storage at positive temperatures can be caused by the reduction of metabolic activity after AMS encapsulation.

