

# Влияние инкапсуляции в альгинатные микросферы на выживаемость мезенхимальных стромальных клеток в процессе хранения при различных положительных температурах

Д.Н. Тарусин<sup>1</sup>, В.С. Зайков<sup>2</sup>, В.В. Муценко<sup>2</sup>, Ю.А. Петренко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

<sup>2</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Effect of Encapsulation in Alginate Microspheres on Survival of Mesenchymal Stromal Cells During Storage at Different Positive Temperatures

D.N. Tarusin<sup>1</sup>, V.S. Zaikov<sup>2</sup>, V.V. Mutsenko<sup>2</sup>, Yu.A. Petrenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkov National University, Kharkov, Ukraine

<sup>2</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Инкапсуляция мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в альгинатные сферические носители является перспективным направлением клеточной биотехнологии, тканевой инженерии и трансплантологии. В связи с этим важно детально изучить и разработать новые способы хранения биологического материала в составе альгинатных носителей на протяжении длительного времени в неизменном виде.

Целью данной работы было изучить влияние инкапсуляции МСК в альгинатные микросферы на их жизнеспособность и метаболическую активность в процессе хранения при различных положительных температурах.

Для инкапсуляции МСК смешивали с 1,2%-м раствором альгината натрия, затем капельно вносили в раствор CaCl<sub>2</sub> для полимеризации с последующей отмывкой в физиологическом растворе. Полученные альгинатные микросферы переносили в герметичные криоконтейнеры, содержавшие 1 мл среды α-MEM и 10% ЭС, и хранили при температурах 4, 20 и 37°C в течение 7 суток. Жизнеспособность и метаболическую активность МСК оценивали после 1, 2, 3, 4 и 7 суток хранения с использованием МТТ-теста.

Показано, что жизнеспособность суспензий МСК (без инкапсуляции) через 3 суток хранения при температуре 37, 20 и 4°C снижалась более чем в 2 раза по сравнению с исходными показателями. На 4-е сутки хранения жизнеспособность клеток уменьшалась до критического уровня независимо от температуры инкубации. Напротив, жизнеспособность и метаболическая активность инкапсулированных МСК сохранялись на высоком уровне вплоть до 7-х суток хранения во всех температурных режимах и составляли 70–85%.

Таким образом, установлено, что МСК в составе альгинатных сферических носителей способны сохранять высокие показатели жизнеспособности и метаболической активности в течение недели хранения при положительных температурах. В то же время клетки в составе суспензии погибают уже на 4-е сутки хранения. В связи с этим можно утверждать, что инкапсуляция МСК в альгинатные микросферы может быть использована для значительного повышения выживаемости клеток при кратковременном хранении или транспортировке.

Encapsulation of mesenchymal stromal cells (MSCs) in alginate spherical carriers is promising direction of cell biotechnology, tissue engineering and transplantology. Therefore, it is necessary to pay attention to the detailed study and to the development of new methods for storing biological material in the spherical carriers unchanged for a long time.

The aim of this work was to study the effect of MSCs encapsulation into alginate microspheres on cells viability and metabolic activity during storage at different positive temperatures.

Encapsulation was carried-out by mixing MSCs with 1.2% sodium alginate, following drop-wise addition of cell-alginate gels into the CaCl<sub>2</sub> solution for polymerization and washing in saline solution. The resulting alginate microspheres were transferred into hermetic cryovials, containing 1 ml of α-MEM with 10% FS and stored at 4, 20 and 37°C during 7 days. The viability and metabolic activity of MSCs were assessed after 1, 2, 3, 4 and 7 days of storage by the MTT assay.

As a result, the viability of the MSCs suspensions (without encapsulation) after 3 days of storage at 37, 20 and 4°C decreased more than twice, comparing to initial level. After 4 days of storage the critical reduction of cells viability was observed, independently of incubation temperature applied. And *vice versa* the viability and metabolic activity of encapsulated MSCs were preserved at high levels for up to 7 days of storage at all temperature conditions and comprised 70–85%.

Thus, it was shown that MSCs within alginate spherical carriers are able to maintain high viability and metabolic activity during 1 week of storage at positive temperatures. Meanwhile non-encapsulated cells die on the 4<sup>th</sup> day of storage. The results confirm that the encapsulation of MSCs into alginate microspheres could be applied as perspective approach for significant improvement of cells survival during short-term storage or transportation.

