

## Збереженість та окисний гомеостаз кріоконсервованої гемопоетичної тканини пуповинної крові

Т.О. КАЛИНИЧЕНКО<sup>1</sup>, М.Ю. АНОШИНА<sup>1</sup>, В.В. БАЛАН<sup>2</sup>, Ж.М. МІНЧЕНКО<sup>2</sup>, Г.Т. ГЛУХЕНЬКА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», м. Київ

<sup>2</sup>ДУ «Науковий центр радіаційної медицини НАМН України», м. Київ

### Survival and Oxidative Homeostasis of Cryopreserved Umbilical Cord Blood Hemopoietic Tissue

T.O. KALINICHENKO<sup>1</sup>, M.YU. ANOSHINA<sup>1</sup>, V.V. BALAN<sup>2</sup>, Zh.M. MINCHENKO<sup>2</sup>, G.T. GLUKHENKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Haematology and Transfusiology

of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>Research Center for Radiation Medicine of the National Academy  
of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Пуповинна кров (ПК) на сьогодні є загально визнаним джерелом гемопоетичної тканини (ГТ) для трансплантації реципієнтам із мієлосупресіями. Створення запасів ПК в умовах наднизьких температур вимагає постійного вдосконалення технологій консервування. Використання останніх наукових здобутків у сфері вивчення резервних можливостей виживання клітин у екстремальних умовах є реальним шляхом досягнення мети максимальної збереженості матеріалу. Відомо, що суттєві зміни гомеостазу клітин прямо пов'язані з серйозними наслідками щодо їхньої життєдіяльності. Тому для попередження пошкодження трансплантата ГТ ПК при кріоконсервуванні необхідно проводити детальний аналіз розвитку зазначених процесів під час виконання технологічних стадій із подальшим внесенням корективів.

У роботі представлені результати аналізу зміни морфофункціональних характеристик ядровмісних клітин (ЯВК) ПК та окисного гомеостазу за показниками перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) на етапах кріоконсервування.

Зразки ПК, що отримували методом «замкненої» системи, вивчали в процесі обробки, заморожування з використанням кріопротектора диметилсульфоксиду (ДМСО) у кінцевій концентрації 5% (Пат. UA №56992, від 10.02.2011), а також після відтаювання. Збереженість ЯВК досліджували за вмістом субпопуляцій, життєздатністю, проліферативною функцією гранулоцитарно-макрофагальних клітин-попередників гемопоєзу. Активність процесів ПОЛ досліджували спектрофотометричним методом (за Волчегорським І.А. у модифікації Аношиної М.Ю. та співавт.). При цьому визначали концентрацію дієнових, триєнових, оксодієнових кон'югатів, кінцевих продуктів типу шифових основ, а також субстратів ПОЛ (за вмістом ізольованих подвійних зв'язків).

Було доведено, що внесення кріопротектора ДМСО до суспензії клітин на підготовчому до заморожування етапі суттєво впливає не тільки на збереженість ЯВК ПК (життєздатність і функціональну активність), а й на їхній окисний гомеостаз. Встановлено також наявність істотної активації процесів ПОЛ у момент розморожування. Отримані результати достовірного зниження показників ПОЛ на стадії концентрації клітин, засвідчуючи високий рівень ендогенних антиоксидантів у одиниці об'єму суспензії, вказують на один із можливих шляхів вирішення проблеми підвищення якості розмороженої ГТ.

Виявлений факт суттєвого реагування системи окисного гомеостазу та якісних характеристик клітин у зразках ПК на вплив чинників кріоконсервування є підставою для вдосконалення технологічного процесу на окремих його стадіях.

Nowadays umbilical cord blood (UCB) is widely used source for transplantation of hemopoietic tissue (HT) to recipients with myelosuppression. Storage of UCB under ultra low temperatures requires continuous improvement of preservation technologies. Using the most recent scientific achievements in study of spare capacity of cell survival under extreme conditions is actual way to achieve the maximal preservation of the material. It is known that significant changes in cell homeostasis are directly associated with serious impact on their vital activities. Therefore, to prevent damage of UCB HT transplant during cryopreservation it is necessary to analyze in details these processes when performing technologic stages with their further corrections.

In the research there are presented the analysis results of changes in morphological and functional characteristics of UCB nucleated cells (NCs) and oxidative homeostasis according to indices of lipid peroxidation (LPO) during cryopreservation.

Samples of UCB, derived in 'closed' system, were studied during treatment, freezing with cryoprotectant dimethyl sulfoxide (DMSO) at final concentration of 5% (Patent UA № 56992 from 10.02.2011) as well as post thaw. Survival of NCs was investigated by sub-population composition, viability, proliferative function of granulocyte-macrophage progenitors of haemopoiesis. Activity of LPO was investigated with spectrophotometric method (according to Volchegorsky I.A. modified by Anoshina M.Yu. *et al.*). Here-with there was determined concentration of diene, triene, oxodiene conjugates, and final products such as Schiff bases, as well as LPO substrates (for content of isolated double bonds).

It has been shown that introduction of DMSO cryoprotectant into cell suspension during preparation to freezing significantly affects not only the survival of UCB NCs (viability and functional activity), but also their oxidative homeostasis. It was established the presence of significant activation of LPO during freeze-thawing. The obtained results of significant reduction of LPO indices at cell concentration, indicating a high level of endogenous antioxidants in unit of suspension volume, pointing to one of the possible way to solve the problem of improving the quality of frozen-thawed HT.

The revealed fact of significant response of oxidative homeostasis and qualitative characteristics of cells in UCB samples on effect of cryopreservation factors is the basis for improving technological process at its certain stages.