

Исследование криоконсервированных клеток эмбриональной печени и мультипотентных стромальных клеток тимуса мышей в регенерации иммунной системы летально облученных животных

В.В. Никольская, Е.И. Никольская

Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины, г. Киев

Investigation of Cryopreserved Embryonic Liver Cells and Mice Thymus Multipotent Stromal Cells in Regeneration of Immune System of Lethally Irradiated Animals

V.V. NIKOLSKAYA, E.I. NIKOLSKAYA

*Institute of Genetic and Regenerative Medicine
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine*

В экспериментах использовали криоконсервированные клетки эмбриональной печени (КЭП) и мультипотентные стромальные клетки (МСК) мышей линии СВА, поскольку нативные клетки практически не могли быть собраны в необходимом количестве и качестве по длительности культивирования ко сроку постановки опыта. Клетки криоконсервировали в среде DMEM/F12 с 20% эмбриональной телячьей сыворотки и 5% ДМСО с использованием программного замораживателя «Кryo 560-16» («Planer»).

На следующий после облучения (9 Гр) день мышам вводили сингенные КЭП 14-го дня гестации или эти же клетки, преинкубированные *in vitro* с растущими в виде колоний МСК в количестве $0,5 \times 10^6$ клеток, которое, как известно, является минимальным при лечении костно-мозгового радиационного синдрома. Иммунную систему исследовали через 30 дней после облучения.

О радиозащитном действии КЭП свидетельствовало увеличение выживаемости животных, которая была почти в 2 раза выше.

КЭП, преинкубированные с МСК тимуса, оказывали более выраженное радиозащитное действие, регистрируемое по выживаемости животных и средней продолжительности жизни, вычисленной методом линейной регрессии, а также по восстановлению массы тела, тимуса, селезенки и клеточности лимфоидных органов. Гуморальный иммунный ответ под влиянием введенных КЭП нормализовался лишь частично, а трансплантация КЭП, преинкубированных с МСК тимуса, приводила практически к полному восстановлению антителогенеза.

Представленные данные свидетельствуют, что в результате контактного взаимодействия с МСК тимуса КЭП приобретают повышенную радиозащитную, регенеративную и иммунобиологическую активность, которая практически не нарушает функции, необходимые для контактного взаимодействия клеток и их участия в процессах, происходящих в иммунной системе.

Cryopreserved embryonic liver cells (ELCs) and multipotent stromal cells (MSCs) of CBA mice were used in experiments, because native cells could not be collected in needed quantity and quality for culturing duration to the term of experiment set-up. The cells were cryopreserved in DMEM/F12 with 20 % of fetal bovine serum and 5 % DMSO with programmable freezer Kryo 560-16 (Planer).

On the following day after irradiation (9 Gy) the mice were injected with syngeneic ELCs of the 14th gestation day or the same cells, which were pre-incubated *in vitro* with growing MSC colonies in quantity of 0.5×10^6 cells which is known as the minimum one during the treatment of bone marrow radiation syndrome. Immune system was investigated in 30 days after irradiation.

The increase in survival rate of animals which was almost twice higher testified to the radiation-protective effect of CELCs.

ELCs pre-incubated with thymus MSCs had more expressed radioprotective effect which was recorded on the survival rate of animals and average life span, calculated by the method of a linear regression, and also on recovery of body weight, thymus, spleen and cell concentration in lymphoid organs. Humoral immune response under the influence of the injected CELCs was normalized just partially and transplantation of CELCs pre-incubated with thymus MSCs, led practically to complete recovery of antibody response.

Presented data testify to the fact that as a result of contact interaction with thymus MSCs the ELCs gain an increased radio-protective, regenerative and immune biological activity which almost does not disorder the functions needed for the contact interaction of cells and their participation in the processes, occurring in immune system.