

# Криоконсервирование как фактор оптимизации терапевтического потенциала клеток фетальной печени при лечении аутоиммунной гемолитической анемии

М.А. СИРОУС, А.Н. ГОЛЬЦЕВ, Е.Д. ЛУЦЕНКО, К.А. ГОЛЬЦЕВ

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

## Cryopreservation as the Factor to Optimise Fetal Liver Cell Therapeutic Potential in Autoimmune Hemolytic Anemia Treatment

M.A. SIROUS, A.N. GOLTSEV, E.D. LUTSENKO, K.A. GOLTSEV

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

Целесообразность применения клеток фетальной печени (КФП) как компонента комплексных программ терапии различных патологических состояний организма обоснована идентификацией в них широкого спектра биологически активных субстанций от клеток стволового компартмента различного уровня дифференцировки до медиаторов химической природы. Криоконсервирование является обязательным компонентом общего технологического процесса их применения в клинической практике, которое, однако, не может считаться индифферентным для многих видов биообъектов. Степень влияния криоконсервирования определяется не только особенностями и спектром физико-химических факторов, но и исходным состоянием биообъекта.

Цель данной работы – сравнительная оценка терапевтического потенциала криоконсервированных КФП разных сроков гестации в экспериментальной модели аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА).

АИГА индуцировали у мышей C57Bl/6J однократным внутрибрюшинным введением сингенных эритроцитов, прогретых до 49,5°C. Противозэритроцитарные аутоантитела идентифицировали с помощью прямой реакции Кумбса на 13-е сутки после введения эритроцитов. В этот же срок оценивали гематологические показатели, состояние органов лимфогемопоэтического комплекса, адгезивную способность клеток перитонеальной полости и субпопуляционный состав Т-клеток селезенки.

Криоконсервированные или нативные (контроль) КФП 14 и 19 суток гестации (КФП-14 и КФП-19) мышей CBA/CaLac вводили мышам-реципиентам C57Bl/6J в дозе  $1 \times 10^6$ /мышь однократно внутривенно через несколько часов после индукции АИГА.

У всех мышей после введения сингенных термообработанных эритроцитов вырабатывались аутоантитела как основной признак развития АИГА. Установлены различия корректирующего эффекта КФП в зависимости от их исходного состояния. Среди нативных КФП преимущество имели КФП-14. Однако после криоконсервирования КФП-19 приобретали лечебный эффект, подобный нативным КФП-14.

Таким образом, в работе показана возможность применения КФП для лечения гемолитических анемий иммунного генеза в виде АИГА. Криоконсервирование практически не модифицировало эффект КФП ранних сроков гестации, но придавало более высокий терапевтический потенциал КФП-19, которые в нативном виде проявляли его минимально.

Expediency of fetal liver cells (FLCs) application as a component of combined therapeutic programs for different pathological states of an organism is stipulated by identification in them of a wide range of biologically active substances from cells of stem compartment of different differentiation level to the mediators of chemical origin. Cryopreservation is a mandatory component of general technological process of their application in clinical practice, which however can not be considered as indifferent for many bioobjects. The degree of cryopreservation influence is determined not only by the peculiarities and range of physical and chemical factors, but initial bioobject state as well. This research was aimed to comparatively estimate a therapeutic potential of cryopreserved FLCs of different gestation terms in experimental model of autoimmune hemolytic anemia (AIHA).

AIHA was induced in C57Bl/6J mice by a single intraperitoneal introduction of syngeneic erythrocytes, heated up to 49.5°C. Anti-erythrocyte antibodies were identified with a direct Coomb's test to the 13<sup>th</sup> day after erythrocyte introduction. Hematological indices, state of lymphohemopoietic complex organs, adhesive ability of peritoneal cavity cells and subpopulation composition of spleen T-cells were assessed within the same term.

Either cryopreserved or native (control) FLCs of 14 and 19 gestation days (FLCs-14 and FLCs-19) of CBA/CaLac mice were once intravenously introduced to C57Bl/6J mice-recipients in  $1 \times 10^6$ /mouse dose some hours after AIHA induction.

The antibodies as the main sign of AIHA development were produced in all mice after syngenic heat-treated erythrocyte administration. The differences in FLCs correcting effect, depending on their initial state, have been established. FLCs-14 had advantage among the native FLCs. However after cryopreservation FLCs-19 get a therapeutic effect similar to native FLCs-14.

Thus, the possibility of FLCs application to treat hemolytic anemia of immune genesis in the AIHA form, has been demonstrated in the research. Cryopreservation did not practically modify the effect of FLCs of early gestation terms, but added higher therapeutic potential to FLCs-19, which manifested it minimally in a native state.