

Влияние низкомолекулярной фракции, полученной из криогемолизата кордовой крови крупного рогатого скота, на структурно-функциональные свойства клеточных культур различного происхождения и лейкоцитов донорской крови *in vitro*

А.К. ГУЛЕВСКИЙ, А.В. ТРИФОНОВА, О.Л. ГОРИНА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Low Molecular Fraction Derived from Cryohemolysate of Bovine Cord Blood on Structural and Functional Properties of Different Cell Cultures and Donor Blood Leukocytes *In Vitro*

A.K. GULEVSKY, A.V. TRIFONOVA, O.L. GORINA

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

Снижение функциональной активности клеток после низкотемпературного хранения является неблагоприятным фактором для их последующего использования в медицине и биотехнологии. Было показано, что низкомолекулярная фракция кордовой крови крупного рогатого скота *in vivo* обладает выраженным репаративным и иммуномодулирующим действием. Это явилось предпосылкой для изучения ее действия *in vitro* с целью восстановления функциональной активности клеток различного происхождения после действия низких температур.

Фракцию кордовой крови (ФКК) (до 5 кДа) получали из криогемолизата цельной кордовой крови крупного рогатого скота путем тангенциальной мембранной ультрафильтрации. Ее влияние на функциональное состояние культур клеток оценивали по показателям адгезии, пролиферации и митотического режима, на лейкоциты донорской крови человека – по показателям фагоцитоза.

При изучении влияния ФКК на клеточные культуры использовали фибробласты человека и перевиваемой линий ВНК-21 clone 13/04. Показано, что ФКК как до, так и после криоконсервирования стимулирует пролиферацию клеточных культур, активируя митотическую активность клеток и не оказывает влияния на количество патологических делений клеток. ФКК не оказывает влияния на способность фибробластов человека прикрепляться к подложке как до, так и после криоконсервирования, но значительно повышает скорость их расплывания. В деконсервированной линии ВНК-21 clone 13/04 ФКК способствует сохранению количества клеток, способных прикрепляться к подложке, на уровне нативной культуры и нормализует их морфологию.

При исследовании влияния ФКК на лейкоциты донорской крови человека установлено, что она оказывает стимулирующий дозозависимый эффект на показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов. В частности, при исследовании поглотительной и переваривающей функции фагоцитов после инкубации концентрата лейкоцитов с ФКК было отмечено достоверное увеличение фагоцитарного числа и коэффициента завершенности фагоцитоза нейтрофилов и моноцитов по сравнению с контролем. Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов после гипотермического хранения и криоконсервирования также выявило стимулирующее действие ФКК на их поглотительную и переваривающую способности.

Таким образом, показана перспективность использования фракции (до 5 кДа) кордовой крови крупного рогатого скота для восстановления функциональной активности клеток как различных клеточных культур, так и донорской крови после гипотермического или низкотемпературного хранения.

Reduction of cell functional activity after low-temperature storage is an unfavorable factor for their following use in medicine and biotechnology. It was shown that low molecular fraction of bovine cord blood (FBCB) *in vivo* was of strong reparative and immunomodulating effect. It was a supposition for study of its effect *in vitro* to recover cell functional activity of different origin after effect of low temperatures.

Fraction (up to 5 kDa) was derived from cryohemolysate of bovine whole cord blood with tangential membrane ultrafiltration. Its effect on functional state of cell cultures was evaluated by adhesion, proliferation and mitotic regimen indices, on human donor blood leukocytes it was done by phagocytosis parameters.

When studying the FCB effect on cell cultures there were used human fibroblasts and passaged lines BHK-21 clone 13/04 ones. It is shown that FBCB both prior to and after cryopreservation stimulates proliferation of cell cultures, activating the cell mitosis activity, and does not affect the number of pathological cell divisions. FCB does not affect the ability of human fibroblasts to attach to a substrate both prior to and after cryopreservation, but significantly increases their flattening rate. In frozen-thawed line BHK-21 the clone 13/04 FCB supports preservation of cell number capable of attachment to the substrate at a level of native culture and normalizes their morphology.

When studying the effect of FBCB on human blood leukocytes it was revealed that this was of dose-dependent stimulating effect on phagocytic activity indices of neutrophils and monocytes. Particularly, when studying the digestive and absorptive functions of phagocytes after incubation of leukocyte concentration with FBCB, it was observed a significant increase of phagocytic number and phagocytosis completeness coefficient of neutrophils and monocytes if compared with the control. The study of phagocytic activity of neutrophils and monocytes after hypothermic storage and cryopreservation also revealed a stimulating effect of FBCB on their absorptive and digestive capacity.

Thus, it was shown a perspective use of fraction (up to 5 kDa) of bovine cord blood to recover functional activity of cells, both of different cell cultures and donor blood after hypothermic or low temperature storage.