

Исследование иммунорегуляторных свойств криоконсервированных нейроклеток эмбриона человека

О.В. МАРКОВА¹, А.Ю. ПЕТРЕНКО², Т.Г. ОЛЕЙНИКОВА¹

¹Институт нейрохирургии имени акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г. Киев

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Study of Immune Regulatory Properties of Human Embryonic Cryopreserved Nerve Cells

O.V. MARKOVA¹, A.YU. PETRENKO², T.G. OLEJNIKOVA¹

¹A.P. Romodanov Institute of Neurosurgery, Kyiv, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Клинические испытания методов клеточной терапии свидетельствуют о многостороннем действии этого нового вида лечения на организм больных. Предполагают, что механизмы таких влияний могут быть обусловлены продукцией эмбриональными клетками водорастворимых соединений.

Цель работы – исследование некоторых показателей функционального состояния лимфоцитов при культивировании с нейроклетками эмбриона человека.

Криоконсервированные нейроклетки эмбриона человека (2×10^6) после размораживания смешивали с 0,3%-м агаром и помещали в пластиковые чашки Петри. После застывания агарового слоя в чашки Петри вносили суспензию лимфоцитов донора в 2 мл полной среды ДМЕМ (2×10^6 лимфоцитов в 1 мл среды) и инкубировали 18 ч при 37°C в атмосфере, содержащей 5% CO₂. Затем определяли удельный вес жизнеспособных лимфоцитов (окраска 0,2%-м раствором трипанового синего), количество Hoechst-положительных лимфоцитов, содержание CD25-положительных лимфоцитов (метод проточной цитофлюориметрии), активность лимфоцитов в тесте спонтанной и антителозависимой цитотоксичности с ксеногенными эритроцитами. Контролем служили лимфоциты того же донора, которые инкубировали на слое 0,3%-го агара, не содержащего нейроклетки эмбриона человека.

Установлено, что культивирование лимфоцитов на слое агара, содержащем нейроклетки эмбриона человека, сопровождается увеличением удельного веса жизнеспособных лимфоцитов, снижением в 2 раза количества Hoechst-положительных лимфоцитов, уменьшением удельного веса CD25-положительных лимфоцитов.

Нейроклетки эмбриона человека в условиях культивирования улучшают показатели жизнеспособности лимфоцитов доноров, нормализуют количество CD25-положительных лимфоцитов. По-видимому, имеет место продукция эмбриональными клетками водорастворимых соединений, оптимизирующих функциональное состояние лимфоцитов.

Clinical trials of cell therapy methods testify to a versatile effect of this new treatment on patients' organism. The mechanisms of such effects are assumed as possibly stipulated by producing water soluble factors by embryonic cells.

The research was aimed to study some indices of lymphocyte functional state under culturing with human embryo nerve cells.

Human embryo cryopreserved nerve cells (2×10^6) were mixed with 0.3% agar and placed into plastic Petri dishes. After agar layer hardening, the donor lymphocyte suspension was introduced into Petri dishes in 2 ml DMEM medium (2×10^6 lymphocytes in 1 ml medium) and incubated for 18 hrs at 37°C under 5% CO₂ atmosphere. Afterwards we have determined specific weight of viable lymphocytes (0.2% trypan blue staining), Hoechst-positive lymphocyte number, CD25-positive lymphocyte content (flow cytometry method), lymphocyte activity in test of spontaneous and antibody-dependent cytotoxicity with xenogenic erythrocytes. Lymphocytes of the same donor, incubated on 0.3% agar layer, free of human embryo nerve cells, served as the control.

Lymphocyte culturing on agar layer, containing human embryo nerve cells is accompanied by an increase in specific weight of viable lymphocytes, two-fold decrease in Hoechst-positive lymphocytes, specific weight reduction of CD25-positive lymphocytes.

Human embryo nerve cells under culturing conditions improve the viability indices of donor lymphocytes, normalize the number of CD25-positive ones. It appears that embryonic cells produce the water soluble factors, optimizing functional state of lymphocytes.