

**Строкова С.О.<sup>1</sup>, Арутюнян И.В.<sup>1</sup>,  
Муллабаева С.М.<sup>1</sup>, Фатхудинов Т.Х.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»  
Минздрава России

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы  
народов»  
estel.7@list.ru

### **КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ТКАНИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА: РАЗРАБОТКА БЕЗОПАСНОГО И ЭФФЕКТИВНОГО ПРОТОКОЛА**

**АКТУАЛЬНОСТЬ.** Пупочный канатик является источником уникальных по своим свойствам мультипотентных стромальных клеток (МСК), однако доступ к нему открыт лишь однажды, сразу после рождения ребенка. Крупнейшие биобанки мира активно предлагают услуги криоконсервации ткани пуповины с целью выделения из неё аутогенных клеточных культур при возникновении необходимости в будущем. Безопасность клеточных трансплантатов во многом зависит от используемых протоколов криоконсервации и экспансии культур, при этом в большинстве протоколов используются ксеногенная сыворотка крови и потенциально токсичный диметилсульфоксид (ДМСО).

**ЦЕЛЬ.** Разработка эффективного протокола криоконсервации ткани пуповины, отвечающего xeno-free и DMSO-free стандартам.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Пуповину человека ( $n = 10$ ) получали при проведении родоразрешения путём операции кесарева сечения. Материал отмывали от крови, нарезали на диски толщиной 5 мм и помещали в криопротекторную среду. Использовали два типа криопротекторной среды: (1) эмбриональная телячья сыворотка с добавлением сахарозы до 0,5М и ДМСО до 10%, (2) фосфатно-солевой буфер pH 7,4 с добавлением сахарозы до 0,5М, глицерина до 20% и альбумина человека до 35 г/л. Материал охлаждали до  $-70^{\circ}\text{C}$  со скоростью  $1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ . и переносили в криохранилище. Сравнение эффективности протоколов проводили через 1–2 нед. хранения. Сохранность жизнеспособности клеток оценивали с помощью МТТ-теста на макропрепаратах и окрашивания кальцеином-АМ и иодидом пропидия на поперечных криосрезах. Выделение первичных клеточных культур проводили методом эксплантов с предварительной ферментативной обработкой ткани. Принадлежность выделенных культур к МСК оценивали с помощью анализа иммунофенотипа и индукции направленной дифференцировки *in vitro*.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Оба используемых протокола обеспечивали сохранность архитектоники ткани пуповины после размораживания и выживаемость всех типов клеток: однослойного амниотического эпителия, стромальных клеток субамниотической, интерваскулярной и периваскулярной области, клеток стенок кровеносных сосудов и эндотелия. Эффективность выделения первичных клеточных культур из вартонова студня составила 100%. Клетки имели соответствующий МСК профиль экспрессии поверхностных антигенов CD73+, CD90+, CD105+, CD45-, CD34-, CD11b-, CD19-, HLA-DR- и отвечали на действие индукторов дифференцировки в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Разработанный протокол криоконсервации ткани пуповины человека без использования ксеногенных компонентов и ДМСО обеспечивает сохранность жизнеспособных клеток в ткани и возможность получения культур мультипотентных

стромальных клеток. Использование протоколов, соответствующих xeno-free и DMSO-free стандартам, необходимо для обеспечения качества полученных из криоконсервированной ткани клеточных культур, предназначенных для трансплантации.

Финансирование исследования: *Инициативная тема НИР РУДН № 030901-0-000.*

**Стуканёва М.Е.<sup>1</sup>, Соколов А.В.<sup>2</sup>, Пущина Е.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Национальный научный центр морской биологии

<sup>2</sup> Институт водных и экологических проблем  
ДВО РАН

Stykanyova@mail.ru

### **НЕЙРОНАЛЬНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ В МОЗЖЕКЕ МОЛОДИ СИМЫ ONCORHYNCHUSMASOU ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ**

У костистых рыб значительная часть вновь образованных нейронов выживает в течение длительного времени, поскольку, в отличие от млекопитающих, в мозгу рыб сенсорные проекции могут расти и развиваться всю жизнь из-за адаптации к постоянному увеличению размеров тела и объема входящей сенсорной информации. Эти процессы тесно связаны со способностью костистых рыб эффективно восстанавливать нервную ткань после повреждения. Изучение животных, способных к регенерации, полезно при исследовании постэмбрионального и репаративного нейрогенеза. В работе было использовано 60 годовалых особей молоди симы *Oncorhynchus masou*. Методом ИГХ маркирования бромдезоксифуридина (BrdU) были исследованы процессы пролиферации в различных зонах мозжечка молоди симы в норме и через три дня после нанесения механической травмы в дорсальную область тела мозжечка. В контроле и после повреждения в молекулярном и в гранулярном слоях мозжечка были идентифицированы BrdU+ клетки и, в некоторых случаях, BrdU+ ядра. Согласно классификации Траниелло учитывались два типа элементов, маркированные BrdU: клеточные ядра диаметром около 3.5 мкм и клетки диаметром около 5 мкм (Traniello et al., 2013). Наиболее крупное скопление BrdU+ клеток после травмы отмечалось в области прокола, в нижней трети молекулярного слоя дорсальной, латеральной и базальной зон и в гранулярном слое латеральной зоны мозжечка. Наличие большого количества BrdU+ клеток, возможно, указывает на то, что именно в этих зонах возникает максимальный пролиферативный ответ после травмы. Наиболее интенсивно BrdU-маркированные клетки располагались одиночно, на большом расстоянии друг от друга в толще молекулярного слоя, менее плотно окрашенные клетки формировали небольшие кластеры. В области прокола в среднем, в три раза увеличивалось число интенсивно окрашенных BrdU+ клеток по сравнению с интактными животными. Наибольшая плотность распределения маркированных клеток была характерна для поверхности молекулярного слоя дорсальной области, содержащей дорсальную матричную зону (ДМЗ). В этой зоне клетки формировали кластеры по 10–15 элементов, что не было характерно для интактного мозжечка. В гранулярном слое дорсальной зоны после нанесения травмы количество маркированных клеток двукратно превышало таковое в базальной и латеральной зонах. Во всех зонах интактного мозжечка выявлялись в небольшом количестве BrdU+ клетки, что свидетельствует о наличии процессов