

ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ДЛЯ НИИТ В РАМКАХ РАЗВИТИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

М. Е. Оспанова, С.А. Абдрахманова, М.А. Ахаева, С.Д. Жалмагамбетова

*Научно-производственный центр трансфузиологии, Республика Казахстан, 000010, г.Астана, ул. Керей Жанибек хандар,10
e-mail: omninipct16@mail.ru*

Одним из перспективных клинических направлений является применение МСК в рамках тандемной трансплантации с гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК) при онкогематологических заболеваниях и ряде аутоиммунных заболеваний, а также использование МСК в лечении рефрактерных форм реакции трансплантат против хозяина, развившейся после аллогенной трансплантации ГСК.

Применение МСК в лечебных целях требует проведения культивирования и накопления клеточной массы *in vitro* в достаточном количестве для клинического применения.

Внедрить технологию заготовки МСК, выделенных из костного мозга аллогенных доноров.

В качестве материала для получения сыворотки АВ (IV) группы крови по системе АВ0 была использована кровь доноров группы АВ (IV), допущенных к донации в рамках национальных требований к донорам крови.

Для экспериментального выделения и культивирования МСК был взят костный мозг от двух аллогенных взрослых доноров путем миелоэкспузии из тазовых костей. Мононуклеарная фракция была выделена на градиенте плотности. Для приготовления полной питательной среды использовались среда альфа-МЕМ, растворы глутамина, антибиотика-антимикотика. АВ-сыворотка добавлялась в объеме, составляющем 10% от объемаготавливаемой питательной среды.

Клетки культивировали в течение 7-14 суток в CO₂-инкубаторе при температуре +37°C и влажности до 95%, с 5% содержанием CO₂. Количество клеток и жизнеспособности оценивали в камере Горяева. Иммунофенотипирование клеточного продукта проводили методом проточной цитофлуориметрии.

В ходе наблюдения за ростом клеток отмечалась достаточно активное увеличение конfluenceности до 85-92%, один пассаж занимал срок от 4 до 14 дней в зависимости от посевной концентрации, которая составляла от 3000 до 8500 клеток на кв.см. Количество МСК увеличилось относительно первоначально внесенных клеток в пределах от 1,1 до 3,5 раз. В ходе эксперимента проводились процедуры заморозки клеточного продукта с последующими размораживанием и культивированием. При однократном замораживании потери клеток составили до 52%, но при последующем культивировании в течение 7 дней количество клеток увеличилось в 7,2-7,9 раз. При повторном замораживании замораживании потери клеток составили до 68% и уже при последующем культивировании в течение 7 дней количество клеток увеличилось в 1,55 раз.

При микроскопии выявлено, что клетки имели вид вытянутых веретенообразных клеток фибробластоподобной формы, характерной для МСК. Жизнеспособность клеток составляла 92-96 %.

При иммунотипировании конечного клеточного продукта обнаружение маркеров CD90+ CD105+ CD73+, присутствующих на мембранах МСК, составило 98,3%.

АВ-сыворотка в составе полной питательной среды для наращивания МСК поддерживает пролиферативный потенциал и обеспечивает сохранение морфологии клеток и может быть использована для эффективного культивирования МСК человека и разработки клеточных препаратов на их основе, пригодных для безопасного клинического применения. Повторные заморозки негативно влияют на пролиферативный потенциал клеток.