

УДК: 615.361.36.013.014.41

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ
РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ
КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ****А.Н.Гольцев, Е.Е.Ямпольская, Т.Г.Дубрава***Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (Харьков, Украина)*

Проведено исследование динамики изменения присущих стволовым кроветворным клеткам фетальной печени (СКК КФП) фенотипических характеристик и синтеза альфа-фетопротеина. Полученные данные свидетельствуют о возможности существования взаимообусловленности его продукции и мультипотентных предшественников в эмбриогенезе. Установлено, что максимальная концентрация наиболее потенциальных кроветворных предшественников и альфа-фетопротеина в КФП определяется на 13-е сутки гестации. Различной степени перераспределение субпопуляционного состава СКК среди колониеобразующих единиц грануломоноцитопозеза (КОЕ-ГМ) при использовании различных режимов криоконсервирования является основанием его применения как фактора дифференциального воздействия на определенные компартменты кроветворных предшественников ФП.

Ключевые слова: *стволовые кроветворные клетки, клетки фетальной печени, альфа-фетопротеин, молекулы адгезии, КОЕ-ГМ.*

Введение

Использование гемопоэтических клеток фетальной печени (КФП) является одной из терапевтических стратегий, направленных на минимизацию развития многих патологических состояний. Очевидно, что эффективность трансплантации КФП определяется присутствием в них широкого спектра клеточных популяций, среди которых ключевую роль играют стволовые кроветворные элементы (Грищенко, Гольцев, 2002; Gilles et al., 1997). Тот факт, что КФП обладают способностью корригировать не только гемопоэтическую, но и иммунокомпетентную сферу организма реципиента, делает их весьма привлекательными при лечении аутоиммунных заболеваний (Гольцев и др., 2003; Горская и др., 2003). Иммунотропный и иммунорегуляторный потенциал гемопоэтических предшественников разной степени зрелости из различных гемопоэтических плацдармов изучаются в последнее время достаточно интенсивно (Гольцев, 1997; Горская и др., 2003; Грищенко, Гольцев, 2002; Roy et al., 1997). Способность КФП ингибировать иммунные реакции в системе *in vivo* и *in vitro*, во-первых, не рестриктирована по антигенам главного комплекса гистосовместимости и, во-вторых, реализуется без предварительного контакта с клетками (тканями)–мишенями (Гольцев и др., 1996, 1999).

Считается, что такого рода феноменология обусловлена продукцией этими клетками биологически активных субстанций с супрессорной активностью (Бельский и др., 2005; Грищенко, Гольцев, 2002). Факторы естественной иммунной супрессии включают в себя трансформирующий фактор роста β (ТРФ- β), оксид азота (NO), эритроидный супрессорный фактор, простагландины и т. д. (Бельский и др., 2005; Surbek et al., 2000; Stopka et al., 1998; Wickenhauser et al., 1995). Продуцирующие эти факторы клетки идентифицированы в тканях гемопоэтического плацдарма взрослых грызунов (Philips et al., 2000; Stopka et al., 1998), человека (Jiang et al., 1994; Wickenhauser et al., 1995), а также в печени эмбрионов (Surbek et al., 2000).

Наряду с этим, существенным моментом обоснования применения клеточно-тканевых субстратов гемопоэтического плацдарма для лечения дисфункции иммунокомпетентной сферы является потенциальная возможность трансплантируемых СКК «реставрировать» иммунную систему (ИС) реципиента через обновление собственного компартмента подобных клеток (Гольцев, 1997; Грищенко, Гольцев, 2002). Этот тезис имеет непосредственное отношение к КФП, поскольку указывается, что наиболее примитивные предшественники гемопоэза более склонны к реализации такого потенциала. В связи с этим, необходимо обратить внимание на то, что даже среди КФП гемопоэтические предшественники существенно меняют свой структурно-функциональный статус на различных этапах гестационного периода (Morrison et al., 1995; Roy et al., 1997). Наиболее потенциальными принято считать СКК ранних сроков гестации как у человека (Frans et al., 2005; Gilles et al., 1997), так и у экспериментальных животных (Ema, Nakauchi, 2000; Morrison et al., 1995).

Криобиологические технологии давно зарекомендовали себя как один из важнейших компонентов аппликации клеточной и тканевой терапии в клинической практике. Вместе с тем, возможность использования криоконсервирования как способа модификации структурно-

функціонального статусу біооб'єкта, в том числі КФП, являється одним із суттєвих моментів в цьому напрямленні. Отримані переконливі дані про те, що в ряду випадків терапевтичний ефект криоконсервованого матеріалу по ряду параметрів перевищує такої нативного (Гольцев і др., 2000, 2003, 2005). Що стосується продуктів ембріофетоплацентарного комплексу (ПФПК), то були висказані припущення, підтверджені деякими експериментальними дослідженнями, про можливість криоконсервування змінювати складовий склад клітинно-тканевих субстратів і, головне, модифікувати їх структурно-функціональний статус (Гольцев і др., 1996; Козлова, 2005; Goltsev et al., 2006).

В зв'язі з цим виникає цілком логічний запитання щодо того, що ж являється «оптимальним» режимом криоконсервування біооб'єкта, чи є необхідність добиватися «абсолютної» його збереженості і які методи підходять для цього можуть бути використані. Це в повній мірі стосується до такого дуже інтригуючого біооб'єкту як КФП.

Виходячи з цього, метою даного дослідження було визначити фенотипічні характеристики субпопуляції КФП, які стосуються до ембріонального кровотворного предшественника у мишей в різні терміни вагітності, а також оцінити вплив різних режимів криоконсервування на функціональний статус предшественників (КОЕ-ГМ) серед КФП.

Об'єкти і методи дослідження

Експерименти проводилися на мишах лінії СВА/Н 12–14-тижневого віку масою 18–20 г. Маніпуляції з тваринами виконані згідно з Міжнародними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1985). КФП були отримані на середі 199 з 3% ембріональної телячої сироватки і 2% цитрату натрію.

Відсоток клітин, експресуючих СД 34, Mac-1, LFA-1 антигени на поверхні КФП, визначали методом проточної цитометрії з допомогою моноклональних антитіл фірми Biolegend: anti-CD 34 (PE), anti-Mac-1 (CD 11b; FITC), anti-LFA-1 (CD 11a; FITC). Статистичний аналіз даних здійснювали з допомогою програми WinMDI 2.8. Вміст альфа-фетопроєїну визначали імуноферментним методом на аналізаторі Microplate reader DNM-9602 з допомогою набору реактивів фірми «Протеїновий контур» (Санкт-Петербург). Криоконсервування КФП здійснювали под захистом 5 або 7,5% диметилсульфоксиду (ДМСО) на програмному замораживачі "Cryoson" (Німеччина) зі швидкістю 1°C/хв до –40°C (режим Крио-1) (Rowley et al., 1994) і 1°C/хв до –40°C, 10-хвилинна експозиція, 10°C/хв від –40°C до –80°C з наступним зануренням зразків в рідкий азот (режим Крио-2) (Jons et al., 1995). Вміст предшественників грануломоноцитопоза (КОЕ-ГМ) серед КФП і кісткового мозку (КМ) визначали в системі *in vitro* за кількістю формованих колоній (КОЕ) і кластерів (КЛОЕ) в полужидкому агарі. Клетки культивували в концентрації 1×10^5 клітин/мл (Шершков, 1974). Їх ідентифікацію в нативному матеріалі здійснювали на 7-й день, в криоконсервованому – на 14-й день культивування, оскільки проліферативна активність КОЕ-ГМ тимчасово інгібована під впливом криоконсервування (Дубрава, 1986). Препарати розглядали під інвертованим мікроскопом (збільшення $\times 40$). Для оцінки особливостей розподілу кровотворних клітин різної ступені диференціювання (Афанасьєв, Алмазов, 1985) був введений індекс проліферативної активності – ІПА (КОЕ/КЛОЕ).

Результати і обговорення

КФП здатні виробляти широкий спектр регуляторних цитокінів і імуноактивних субстанцій, однією з яких є альфа-фетопроєїн. Її регуляторна роль в системі імунітету заключається, в першу чергу, в тому, що вона може виступати в ролі фактора, активуючого супресорне ланка імунітету, і інгібувати функцію Т-ефекторів (Черешнев, 2003; Bartha et al., 2000). Крім того, КФП мають високу гемопоетичну активність, здатність при їх трансплантації відновлювати лімфогемопоетичний комплекс мишей-реципієнтів без розвитку імюноконфліктних ситуацій (Гольцев і др., 1999). Відомо, що кровотворні предшественники КФП по мірі збільшення терміну вагітності змінюють свої фенотипічні характеристики і функціональний статус (Gilles et al., 1997; Morrison et al., 1995). Фактично, це відбувається по мірі диференціювання СКК фетальної печінки. Для ідентифікації серед КФП кровотворних предшественників використовують різні маркери, а саме CD 34, Mac-1, Sca-1, Thy-1 і т. д. Ступінь їх експресії або як самостійного свідка, або в поєднанні з іншими мембранними структурами характеризує рівень функціонального потенціалу предшественників (ступінь диференціювання) (Morrison et al., 1995). Наприклад, ступінь експресії СД 34-маркера по мірі збільшення терміну вагітності зменшується. В результаті, в загальному компартменті стоволових кровотворних клітин співвідношення пула недиференційованих, які мають високу

пролиферативным потенциалом, и клеток, продвинутых в дифференцировке, изменяется (Frans et al., 2005).

Проведенная нами сравнительная оценка количественного содержания клеток, экспрессирующих CD 34 антиген, как общий маркер прогениторных гемопоэтических клеток, и альфа-фетопротеина у мышей разного срока гестации показала весьма высокую степень совпадения динамики изменения этих показателей (рис. 1). Так, максимум содержания CD 34⁺ клеток приходился на 13-е сутки гестации, а к 17-м суткам наблюдалось снижение их количества примерно в 2,5 раза. Несмотря на то, что концентрация альфа-фетопротеина с 13-х по 17-е сутки снижалась более интенсивно (примерно в 8 раз), совпадение общей тенденции обоих процессов может говорить о взаимообусловленности продукции альфа-фетопротеина и мультипотентных предшественников в эмбриогенезе (Emoto, Kaufman, 2003; Freitas et al., 2003; Lazaro et al., 2003).

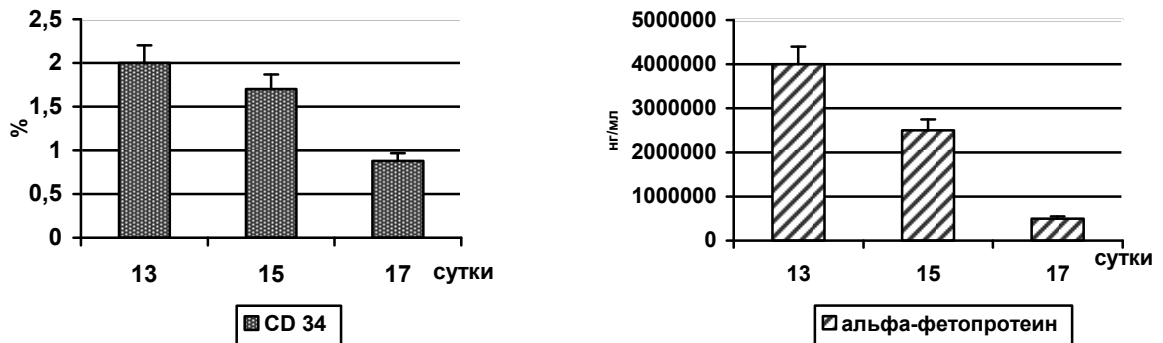


Рис. 1. Содержание CD 34⁺ клеток и альфа-фетопротеина на разных стадиях гестационного периода

Широкий спектр биологической активности КФП реализуется на уровне медиаторных (дистантных) взаимодействий и в процессе межклеточной кооперации с участием различных молекул адгезии, таких как Мас-1, LFA-1, ICAM-1, VCAM, L-селектин, VLA-4, VLA-5 и др. (Verfaille, 1998). Эти молекулы были идентифицированы и охарактеризованы как структуры, задействованные в регуляции функционального состояния, в первую очередь лейкоцитов. В дальнейшем было показано, что молекулы адгезии семейства иммуноглобулинов и ряда хемокинов присущи многим клеткам и участвуют также в процессах миграции и расселения стволовых клеток в костномозговом микроокружении. В частности, Мас-1, в виде гетеродимера CD-11b и CD 18, является членом семейства интегринов. CD11b и CD18 представляют собой молекулы адгезии, которые играют важную роль во взаимодействии мультипотентных СКК со стромой КМ (Goltsev, 2006; Verfaille, 1998; Roy, Verfaille, 1999). Считается, например, что различия в экспрессии Мас-1 на СКК взрослого КМ и фетальной печени связаны с изменением спектра сигналов микроокружения (Goltsev et al., 2006). Предполагается, что Мас-1, экспрессирующие СКК, в большей степени склонны к пролиферации, тогда как Мас-1⁻ СКК – к состоянию покоя (Morrison et al., 1995). Этот факт указывает на то, что экспрессия Мас-1 играет роль в передаче сигналов пролиферации мультипотентным предшественникам.

Можно согласиться, что по мере дифференцировки СКК увеличивается как количество клеток, так и степень экспрессии молекул адгезии на их поверхности, включая Мас-1 структуру. В полном соответствии с данной концепцией находятся полученные нами данные, которые свидетельствуют, что степень экспрессии Мас-1 антигена, как маркера дифференцировки стволовых гемопоэтических клеток, действительно повышалась по мере увеличения сроков гестации (рис. 2), причем значительно интенсивнее в период с 15-е по 17-е сутки (в 2,5 раза), чем с 13-х по 15-е (в 1,05 раза). В связи с этим важно заметить, что, по данным (Morrison et al., 1995), после 15-х суток гестации в эмбриональной печени резко снижается концентрация СКК с мультипотентным длительным потенциалом самоподдержания и реконструктивным потенциалом самоподдержания, т.е. наиболее примитивных предшественников.

Процесс продвижения предшественников КФП от менее к более дифференцированным по мере увеличения срока гестации подтверждается и увеличением концентрации среди них LFA-1⁺ клеток. LFA-1-lymphocyte function-associated antigen (лимфоцитарный функционально-ассоциированный антиген) экспрессируется и на СКК (Tavassoli, Hardy, 1990; Teixeira et al., 1992). Широта его функционального потенциала достаточно велика, но, пожалуй, ключевая его роль – в придании СКК

по мере созревания способности взаимодействовать с эндотелиальными клетками микрососудов и формировать так называемую «миграционную пору» для выхода из ниши кроветворного микроокружения (Prosper et al., 1998). Поэтому вполне логично считать, что увеличение концентрации с 13-х по 17-е сутки LFA-1⁺ КФП (рис. 2) отражает и динамику изменения содержания среди них LFA-1⁺ кроветворных предшественников. Итак, судя по результатам оценки фенотипических характеристик, из трех выбранных сроков аттестации максимальная концентрация наиболее потенциальных СКК в общей популяции КФП может присутствовать на 13-е сутки гестации. Учитывая поставленные задачи и функциональные характеристики этих клеток, в дальнейших исследованиях для криоконсервирования были выбраны КФП именно этого срока гестации.

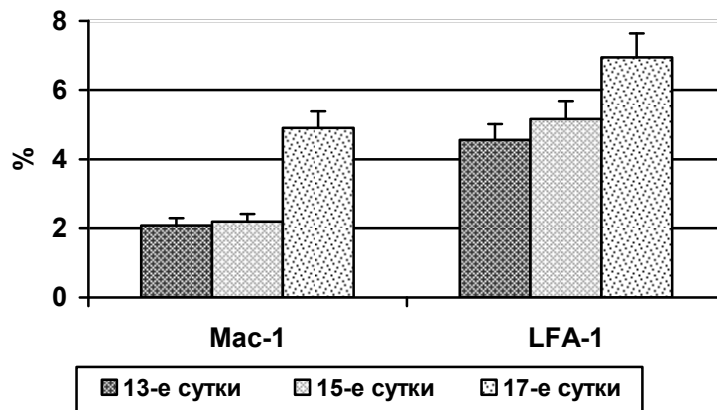


Рис. 2. Экспрессия молекул адгезии на поверхности КФП в зависимости от сроков гестационного периода

Основные постулаты криобиологии говорят о том, что характер и степень влияния физико-химических факторов, реализуемых в процессе криоконсервирования, существенно зависят от исходного состояния биообъекта. Показано, что один и тот же режим криоконсервирования по-разному влияет на СКК разного уровня дифференцировки, а СКК какого-то одного уровня дифференцировки по-разному отвечают на физико-химические факторы, реализуемые при разных режимах криоконсервирования (Козлова, 2005). Подтверждением этому могут быть представленные на рис. 3 результаты зависимости сохранности кроветворных предшественников грануломоноцитопоза (КОЕ-ГМ) КФП 13-х суток гестации от режима криоконсервирования. Во-первых, очевидно, что этот показатель существенно изменялся при изменении условий замораживания–отогрева. Во-вторых, даже при «оптимальном» режиме, каковым оказался Крио-2 с 5% ДМСО, максимальная сохранность предшественников была на 20% ниже, чем в контроле. Однако, при этих условиях увеличивался достоверно по сравнению с контролем ИПА (в 1,3 раза; $p < 0,05$), что говорит о перераспределении в таком материале субпопуляций предшественников в сторону увеличения более потенциальных. При этом остальные режимы и концентрации ДМСО обеспечивали, как и в интактных КФП, сбалансированный состав субпопуляций КОЕ и КлОЕ, но более низкую интегральную сохранность предшественников.

Бесспорно, что взятые в качестве примера оценки функционального статуса кроветворных предшественников КОЕ-ГМ по характеристикам структурно-функциональной организации отличаются от тех предшественников, фенотипические характеристики которых мы оценивали. Ответ последних на варьирование экспрессии факторов криоконсервирования при различных режимах, видимо, будет также иметь свои особенности. Однако, тот факт, что конкретные предшественники (КОЕ-ГМ), среди КФП конкретных сроков гестации (13-е сутки), продемонстрировали зависимость функционального ответа от условий криоконсервирования, ориентирует нас на необходимость поиска оптимальных режимов и в отношении примитивных эмбриональных кроветворных предшественников. Решение такой задачи определяется прежде всего высокой степенью востребованности такого уровня клеток для лечения широкого спектра патологических состояний организма.

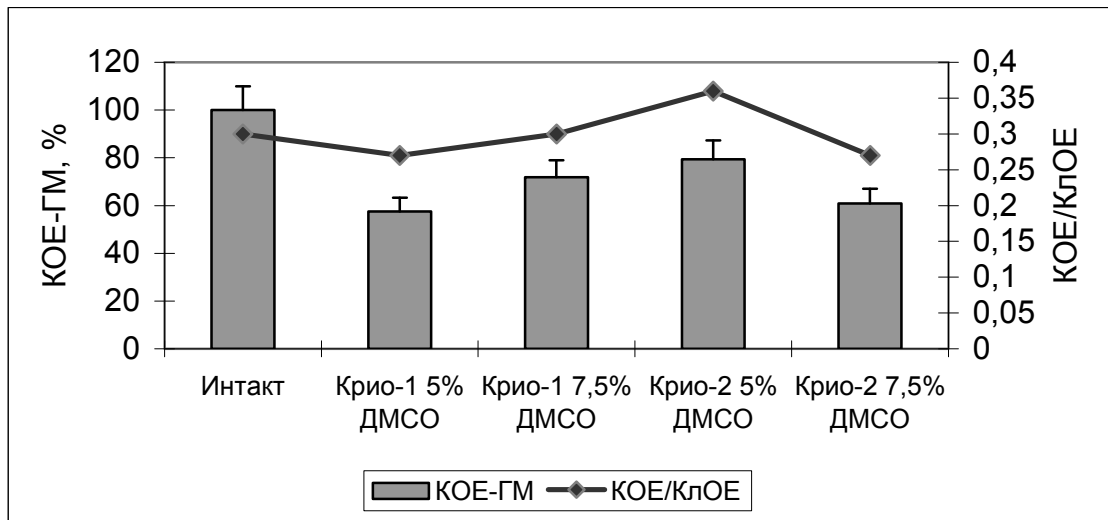


Рис. 3. Содержание КОЕ-ГМ в КФП 13-х суток гестації, криоконсервированных по разным режимам

Список литературы

- Афанасьев Б.В., Алмазов В.А. Родоначальные кроветворные клетки человека: физиология и патология. – Л.: Наука, 1985. – 204с.
- Бельский Ю.П., Данилец М.Г., Бельская Н.В. Роль оксида азота в иммуносупрессорной и противоопухолевой активностях клеток эмбриональной печени // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – №2. – С. 75–78.
- Гольцев А.Н. Изучение патофизиологических механизмов проявления иммунореактивности гемопоэтической ткани // Проблемы криобиологии. – 1997. – № 1–2. – С. 37–41.
- Гольцев А.Н., Дубрава Т.Г., Бабенко Н.Н. и др. Модификация структурно-функциональной организации стволовых кроветворных клеток костного мозга после действия факторов низкотемпературного консервирования // Проблемы криобиологии. – 2005. – Т. 15, №3. – С. 365–366.
- Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Дубрава Т.Г. и др. Поиск альтернативных криоконсервированию путей модификации иммунореактивности алломиелотрансплантата. Часть 2. Возможность сотрансплантации эмбриональной печени // Проблемы криобиологии. – 1996. – №2. – С. 3–10.
- Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Дубрава Т.Г. и др. Экспериментальное обоснование возможности применения продуктов фетоплацентарного комплекса (ПФПК) для лечения аутоиммунных заболеваний // Иммунология та алергологія. – 1999. – №3. – С. 47.
- Гольцев А.Н., Останкова Л.В., Луценко Е.Д. и др. Ответ лимфогемопоэтической системы организма на введение продуктов фетоплацентарного комплекса // Проблемы криобиологии. – 2000. – №2. – С. 15–30.
- Гольцев А.Н., Рассоха И.В., Луценко Е.Д. и др. Межклеточные взаимодействия в иммунокомпетентной сфере при ревматоидном артрите после применения гемопоэтических клеток эмбриональной печени // Проблемы криобиологии. – 2003. – №3. – С. 45–53.
- Горская А.Ю., Луценко Е.Д., Останкова М.В. и др. Особенности проявления модулирующей активности клеток эмбриональной печени на лимфогемопоэтический комплекс мышей с аутоиммунной гемолитической анемией // Проблемы криобиологии. – 2003. – №2. – С. 31–37.
- Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения // Проблемы криобиологии. – 2002. – №1. – С. 54–84.
- Дубрава Т.Г. Эффективность криоконсервирования кроветворных клеток в зависимости от их исходных свойств. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Харьков, 1986. – 14с.
- Козлова Ю.А. Вивчення впливу факторів криоконсервування на клітини гемопоетичної системи в умовах розвитку аутоімунних захворювань. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Харків, 2005. – 19с.
- Черешнев В.А., Хаитов Р.М., Сидорович И.Г., Родионов С.Ю. Влияние α -фетопротеина человека на иммунореактивность при трансплантации тканей в эксперименте // Иммунология. – 2003. – №6. – С. 330–332.
- Шерешков С.И. Культивирование гемопоэтических клеток на полутвердых питательных средах // Лаб. дело. – 1974. – №3. – С. 146–150.

- Bartha J.I., Romero-Carmona R., Comino- Delgado R. et al. Alpha-fetoprotein and hematopoietic growth factors in amniotic fluid // *Obstetrics and Gynecology*. – 2000. – №96. – P. 588–592.
- Ema H., Nakauchi H. Expansion of hematopoietic stem cells in the developing liver of a mouse embryo // *Blood*. – 2000. – №95. – P. 2284–2288.
- Emoto M., Kaufmann S.H. Establishment characterization and long-term maintenance of cultures of human fetal hepatocytes // *Trends Immunol.* – 2003. – Vol.24, №7. – P. 364–369.
- Frans T.H.Lim, Humphrey H.H.Kanhai, J.H.Frederic Falkenburg Characterization of the human CD 34+ hematopoietic progenitor cell compartment during the second trimester of pregnancy // *Haematologica*. – 2005. – №90. – P. 173–179.
- Freitas I., Fracchiolla S., Baronzio G. et al. Stem cell recruitment and liver de-differentiation in MMTV-neu (ErbB-2) transgenic mice // *Anticancer Res.* – 2003. – Vol.23, №5. – P. 3783–3794.
- Gilles J.M., Divon M.Y., Bentolia E. et al. Immunophenotypic characterization of human fetal liver hematopoietic stem cells during the midtrimester of gestation // *Am. J. Obstet.* – 1997. – №177. – P. 619–625.
- Goltsev A.N., Babenko N.N., Dubrava T.G. et al. Modification of the state of bone marrow hematopoietic cells after cryopreservation // *Intern. Journal of Refrigeration*. – 2006. – №29. – P. 358–367.
- Jiang S., Levine J.D., Fu Y. et al. Cytokine production by primary bone marrow megakaryocytes // *Blood*. – 1994. – №84. – P. 4151–4156.
- Jones D.R.E., Anderson E.M., Evans A.A. et al. Long-term storage of human haematopoietic progenitor cells and their subsequent reconstitution // *Bone Marrow Transplant*. – 1995. – №16. – P. 298–301.
- Lazaro C.A., Croager E.J., Mitchell C. et al. Liver NKT cells: an account of heterogeneity // *Hepatology*. – 2003. – Vol.38, №4. – P. 333–362.
- Morrison S.J., Hemmati H.D., Wandycz A.M., Weissman I.L. The purification and characterization of fetal liver hematopoietic stem cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1995. – P. 10302–10306.
- Philips R.L., Ernst R.E., Brunk B. et al. The genetic program of hematopoietic stem cells // *Science*. – 2000. – №288. – P. 1635–1640.
- Prosper F., Stroncek D., McCarthy J.B. et al. Mobilization and homing of peripheral blood progenitors is related to reversible downregulation of alpha 4 beta 1 integrin expression and function // *J. Clin. Invest.* – 1998. – №101. – P. 2456–2467.
- Rowley S.D., Bensinger W.I., Gooley T.A. Effect of cell concentration on bone marrow and peripheral blood stem cell cryopreservation // *Blood*. – 1994. – Vol.83, №9. – P. 2731–2736.
- Roy V., Verfaillie C.M. Expression and function of cell adhesion molecules on fetal liver, cord blood and bone marrow hematopoietic progenitors: implication for anatomical localization and developmental stage specific regulation of hematopoiesis // *Exp. Hematol.* – 1999. – №27. – P. 302–312.
- Roy V., Miller J.S., Verfaillie C.M. Phenotypic and functional characterization of committed and primitive myeloid and lymphoid hematopoietic precursors in human fetal liver // *Exp. Hematol.* – 1997. – №25. – P. 387–394.
- Stopka T., Zivny J.H., Stopkova P. et al. Human hematopoietic progenitors express erythropoietin // *Blood*. – 1998. – №91. – P. 3766–3772.
- Surbek D.V., Steinman C., Burk M. et al. Developmental changes in adhesion molecule expression in umbilical cord blood CD 34⁺ hematopoietic progenitor and stem cells // *Am. J. Obstet Gynecol.* – 2000. – Vol.183, №5. – P. 1152–1157.
- Tavassoli M., Hardy C.L. Molecular basis of homing of intravenously transplanted stem cells // *Blood*. – 1990. – №76. – P.1059.
- Teixido J., Hemier M.E., Greenberg J.S., Ankelesaria P. Role of $\beta 1$ and $\beta 2$ integrins in the adhesion of human CD 34h stem cells to bone marrow stroma // *J. Clin Invest.* – 1992. – Vol.90. – P. 358–367.
- Verfaillie C. Adhesion receptors as regulators of hematopoietic process // *Blood*. – 1998. – №92. – P. 2609–2612.
- Wickenhauser C., Hillienhof A., Jungheim K. et al. Detection and quantification of transforming growth factor beta (TGF-beta) and platelet-derived growth factor (PDGF) release by normal human megakaryocytes // *Leukemia*. – 1995. – Vol.9, №2. – P. 310–315.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ФЕНОТИПІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ТА ОЦІНКА ВПЛИВУ РІЗНИХ РЕЖИМІВ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ ПОТЕНЦІАЛ КЛІТИН ФЕТАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ
А.М.Гольцев, К.Є.Ямпольська, Т.Г.Дубрава

Проведено дослідження динаміки змін властивих стовбуровим кровотворним клітинам фетальної печінки (СКК КФП) фенотипічних характеристик і синтезу альфа-фетопротеїну. Отримані дані свідчать про можливість існування взаємозумовленості його продукції і мультипотентних попередників у ембріогенезі. Встановлено, що максимальна концентрація найбільш потентних кровотворних попередників і альфа-фетопротеїну в КФП визначається на 13-ту добу гестації. Різного ступеня перерозподіл субпопуляційного складу СКК серед колонієутворюючих одиниць грануломоноцитопоезу (КУО-ГМ) при використанні різних режимів кріоконсервування є підставою його застосування як фактора диференціального впливу на визначені компартменти кровотворних попередників ФП.

Ключові слова: *стовбурові кровотворні клітини, клітини фетальної печінки, альфа-фетопротеїн, молекули адгезії, КУО-ГМ.*

IDENTIFICATION OF FENOTYPICAL CHARACTERISTICS AND AN ESTIMATION OF INFLUENCE OF VARIOUS CRYOPRESERVATION REGIMES ON FUNCTIONAL POTENTIAL OF FETAL LIVER CELLS

A.N.Goltsev, K.Y.Yampolskaya, T.G.Dubrava

Change in dynamic of phenotypical characteristics inherent to fetal liver hematopoietic stem cells (FLHSC) and synthesis of an alpha-fetoprotein was studied. The received data testify to an opportunity of existence of interconditionality of its production and multipotent progenitors in embryogenesis. It is established, that the maximal concentration of most potent hematopoietic progenitors and an alpha-fetoprotein in FLC is determined at 13th day of gestation. A various degree redistribution of subpopulation composition of HSC among colony-forming units of granulocytopoiesis (CFU-GM) at use of various regimes of cryopreservation is the basis of its application as factor of differential influence on certain compartments of hematopoietic progenitors of FL.

Key words: *hematopoietic stem cells, fetal liver cells, alpha-fetoprotein, molecules of adhesion, CFU-GM.*

Представлено І.Л.Диким

Рекомендовано до друку А.В.Некрасовою