

УДК 616-089.843:57.043

В. И. Грищенко, *акад. НАН України,*
А. Н. Гольцев, *чл.-корр. НАН України,*
Е. А. Щегельская, *канд. биол. наук,*
Ю. Е. Микулинский, *канд. биол. наук,*
Н. Г. Грищенко, *канд. мед. наук*

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

В третье тысячелетие биологическая наука вошла с достижениями, революционизирующими представления о некоторых фундаментальных ее аспектах. Получены и осмыслены принципиально новые экспериментальные данные, свидетельствующие о высокой пластичности организма высших животных, а именно о наличии скрытых резервов обновления соматических клеток в постнатальном онтогенезе благодаря поддержанию пула стволовых клеток (СК) — родоначальниц различных линий клеточной дифференцировки.

Несмотря на то, что упоминание о стволовой клетке относится к началу прошлого столетия (Максимов, 1908), интенсивное освоение этой области клеточной биологии насчитывает не более 15–20 последних лет. Тем не менее, экспоненциальный рост качественных и количественных характеристик этих исследований настолько велик, что сейчас мы в полной мере можем говорить о «конце начала этапа изучения стволовых клеток».

Бывают ситуации, когда, задавая один и тот же вопрос, даже специалистам одной и той же области знаний, мы получаем, в лучшем случае, неоднозначный, а то и вовсе про-

тивоположный ответ. Что-то подобное складывается сейчас вокруг термина «стволовая клетка». Что же это такое? По-видимому, особенность и уникальность этих клеток легче всего воспринимается через призму развития человеческого эмбриона, начинающегося с деления фертилизованной (оплодотворенной) яйцеклетки. Возникающие после первых делений дробления клетки сохраняют все качественные характеристики исходной яйцеклетки. Любая из них может дать начало новой человеческой жизни и поэтому может называться тотипотентной (всемогущей) стволовой клеткой. Формирующаяся через 4–5 сут бластоциста, в частности, клетки внутренней ее массы, уже в определенной мере ограничены в своем потенциале, но все же способны давать начало всем без исключения типам клеток организма животных. Это плюрипотентные (множественный потенциал) стволовые клетки (ПСК) млекопитающих, к которым относятся эмбриональные клетки карциномы (ЭКК), а именно: стволовые элементы тестикулярной опухоли (тератокарцинома); эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) из внутренней клеточной массы, преим-

плантационного эмбриона и эмбриональные зародышевые клетки (ЭЗК), которые происходят из предшественников зародышевых клеток (ПЗК) постимплантационного эмбриона.

В процессе развития зародыша плюрипотентные стволовые клетки превращаются в более дифференцированные мультипотентные стволовые клетки, с меньшей степенью свободы выбора поведения роста. Эти клетки, рассредоточенные по всему организму, можно отнести к органо- и тканеспецифическим стволовым клеткам, дающим начало, например, всем клеткам крови, кожи, нервной и мышечной ткани и т. д.

Весь клон плюрипотентных ЭСК имеет много общих признаков, но и ряд отличий. Несмотря на «минимальный фенотип» и минимум рецепторов, в них все же можно идентифицировать маркеры клеточной поверхности, в частности стадиоспецифические эмбриональные антигены (SSEA-3 и SSEA-4) или опухолевые антигены, и такие маркеры, как щелочная фосфотаза, POV-домен транскрипционного фактора Oct4, высокий уровень теломеразы. Подобно ЭСК, ПЗК содержат высокую активность

щелочной фосфатазы, но, в отличие от более дифференцированных клеток герминативного эпителия, не экспрессируют β -интегрин [1]. Для всех типов стволовых клеток — ЭСК, ЭСК, ЭЗК и ПЗК — характерными внутриклеточными белками-маркерами есть Oct3, Oct4, Tcf, Groncho. Физиологическое значение большинства из них не совсем ясно, за исключением, пожалуй, Oct4, входящего в группу белков-сайленсеров хроматина. Дифференцировка плюрипотентных клеток ассоциирована с отрицательной регуляцией Oct4 уровня и Oct4 гена в ЭСК и у мышей приводит к дифференцировке и утрате их плюрипотентных свойств [2; 3].

Все эмбриональные ПСК могут дифференцироваться *in vitro* в широкий спектр клеток разных типов, представленных в трех первоначальных зародышевых листках эмбриона. При этом идентифицируется усиление экспрессии одних генов (например, кодирующих продукцию Oct3, FGF5) и снижение других (α -ФП, катина 8 и 19) [4].

Современные данные свидетельствуют о возможности использования в лечебных целях не только эмбриональных, но и стволовых клеток взрослых, также обладающих «пластичностью», т. е. способностью формировать клетки различных тканей. В этом смысле особую значимость имеют мезенхимальные стволовые клетки (МСК), способные давать как клетки костной, хрящевой и жировой ткани, так и дифференцированные типы клеток кожи, нервной ткани, гладкой мускулатуры и др. [5; 6].

Находящиеся *in situ* МСК костного мозга, также как и ЭСК, не экспрессируют молекул адгезии. Но по мере культивирования они переходят в пул продвинутых в дифференцировке прогениторных элементов с молекулами адгезии

(VCAM-1, ICAMA и др.), дифференцировки (SH2, SHS-рецептор, фибронектин) [6; 7]. Присутствующие в строме костного мозга МСК, а также эмбриональные МСК не имеют рестрикции плюрипотентности, как и их ранние потомки, что придает статус плюрипотентности клеткам стромы многих органов и, в первую очередь, костного мозга. Формирующие и являющиеся основной конструктивной единицей стромы МСК способны в процессе дифференцировки превращаться в стволовые кроветворные клетки (СКК). Эти две популяции «материнских» и «дочерних» клеток находятся в теснейшем контакте и взаимосвязи, продуцируя взаиморегулирующие сигналы, определяющие их функциональный статус, включая процесс дифференцировки [7; 8]. Фенотип клеток стромы костного мозга, как и кроветворных стволовых предшественников, весьма гетерогенен, что подчеркивает их «коммуникабельность».

Итак, даже беглый анализ клеток, входящих в так называемый компартмент стволовых элементов организма животных, показывает достаточно широкий спектр их структурной и функциональной организации. Действительно, по мере развития каскадного процесса формирования клеток от истинно тотипотентных элементов ранней фертилизованной яйцеклетки до появления более дифференцированных их потомков в разных органах и тканях происходит существенная трансформация количественных и качественных характеристик этих клеток. Такого рода изменения происходят как в естественных условиях *in vivo*, так и в системе *in vitro* при культивировании стволовых предшественников. В общем, в этом не было бы ничего нового и оригинального, если бы не один момент, имеющий не-

посредственное отношение к значимости этих изменений в судьбе собственно тех стволовых элементов, которые проходят такие этапы трансформации структурно-функциональной организации.

В сложном технологическом процессе аппликации стволовых клеток как метода терапии различных патологических состояний организма одно из существенных мест занимает их криоконсервирование. По-видимому, не будет большим преувеличением сказать, что фундаментальный, созидательный камень строящегося здания с названием «криоконсервирование стволовых клеток» был привнесён именно из области репродуктивных технологий. Мощным стимулом выполнения работ в этом направлении стала необходимость успешного решения вопросов помощи бесплодным женщинам, размножения ценных и исчезающих видов животных и т. д. Освоение технологий экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) наряду с положительными моментами увеличило частоту многоплодных беременностей [9], в связи с чем возникла необходимость селективного переноса ограниченного числа эмбрионов и хранения так называемых «избыточных» зародышей [10], криоконсервированных по различным программам [11–13]. Подтверждением удачных работ, ведущихся в нашем институте в этом направлении, есть наступление беременности и родов после переноса деконсервированных эмбрионов человека пациентке, проходившей курс лечения бесплодия методом ЭКО [11]. В данном случае криоконсервирование эмбрионов осуществляли по медленной программе под защитой криопротектора 1,2-пропандиола.

Несмотря на то, что на сегодняшний день разработана своего рода наука технологий криоконсервирования репро-

дуктивных клеток разного уровня организации, установление закономерностей поведения этих структур в процессе и после криоконсервирования остается принципиально важной задачей криобиологии. Успешное решение многих вопросов данной проблемы может быть реализовано как за счет сугубо «технических» аспектов: разработки режимов замораживания-отогрева, подбора криопротекторов и их концентрации, консервирующих сред, условий предобработки перед замораживанием и т. д., — так и учета особенностей отклика этой биосистемы на данные факторы.

Более 30 лет назад D. Wittinghant [14] впервые опубликовал протокол так называемого медленного режима криоконсервирования эмбрионов млекопитающих, который в дальнейшем был использован для криоконсервирования ооцитов и некоторых других тканевых структур репродуктивного тракта. Фактически с этого времени начался этап интенсивного освоения технологий криоконсервирования этих сложных биоструктур, среди которых особую значимость как в медицине, так и социальном плане имеют эмбрионы человека [11; 12; 15], сохранность которых после криоконсервирования и сейчас, к сожалению, остается низкой [11; 15]. Считается, что эмбрион успешно перенес процедуру замораживания-отогрева при сохранении не менее 50 % бластомеров [11; 15], в отношении которых реализуются широкого спектра отрицательно влияющие физико-химические факторы. Исходя из этого, логичным и закономерным будет стремление минимизации действия этих факторов на биообъект на каждом этапе всего технологического процесса криоконсервирования, т. е. от предподготовки материала к замораживанию до экспонирования после отогрева.

Основные постулаты криобиологии говорят о том, что характер и степень влияния физико-химических факторов, реализуемых в процессе замораживания-отогрева биологического объекта, существенным образом зависят от его исходного состояния [16–18]. Другими словами, структурно-функциональный статус биообъекта в данный момент определяет его криолабильность или криостабильность. В контексте рассматриваемой работы, наилучшим подтверждением данного тезиса может быть отклик на физико-химические факторы криоконсервирования стволовых элементов гемопоэтического плацдарма организма.

Ранее нами было установлено, что при, казалось бы, «оптимальных» условиях криоконсервирования костного мозга гибель СКК варьирует в довольно широких пределах — от 45 до 70 % [18; 19]. Тот факт, что, подобно ЭСК, по мере дифференцировки происходит изменение функциональных свойств и структурных характеристик СКК, есть основанием для утверждения, что отмеченная дисперсия сохранности этих клеток может быть обусловлена их исходным состоянием. Другими словами, модификация указанных параметров клеток (по тем или иным причинам) будет определять их устойчивость к действию факторов криоконсервирования. Известно, что в компартменте СКК костного мозга клетки, формирующие колонии *in vitro* (КОЕк), более продвинуты в дифференцировке, чем формирующие колонии *in vivo* (КОЕс). В свою очередь, каждая из этих популяций может быть разделена на субпопуляции в зависимости от степени «потентности». Оказалось, что более дифференцированные среди КОЕк клетки (например, КОЕ-ГМ) менее криостабильны (менее устойчивы к

факторам криоконсервирования), чем менее дифференцированные, дающие смешанные колонии в системе *in vitro* (КОЕ-mix). Более дифференцированные среди КОЕс, а именно формирующие колонии в кроветворном плацдарме на 7–8-е сутки после трансплантации, также оказались более криолабильными, чем менее дифференцированные, формирующие колонии на 13–14-е сутки. Вместе с тем, СКК костного мозга разного уровня дифференцировки в равной степени чувствительны к отрицательному воздействию физико-химических факторов криоконсервирования вне зависимости от фазы клеточного цикла [18].

Не менее важны результаты, которые демонстрируют зависимость криочувствительности каждой из популяций стволовых клеток-предшественников разной степени дифференцировки от условий, в которых они находятся перед криоконсервированием. Причем в данном случае были получены, на первый взгляд, парадоксальные результаты. Экспонирование клеток перед криоконсервированием в условиях гипотермии, либо «температурной нагрузки», т. е. в течение определенного времени при температуре 37–38 °С, в отличие от действия криоконсервирования «в чистом виде», в большей степени снизило криоустойчивость популяции менее дифференцированных СКК (КОЕс), чем продвинутых в дифференцировке КОЕ-ГМ. Следовательно, варьирование условий «предобработки» также будет фактором, в разной степени изменяющим криоустойчивость СКК, находящихся на разных участках дифференцировочного континуума этих клеток.

Реализация функционального потенциала *in vivo* и *in vitro* стволовых клеток из разных источников может определяться и теми условиями, в которых они находятся после крио-

консервирования. Недаром до настоящего времени дискутируется вопрос о необходимости, например, культивирования эмбрионов человека после криоконсервирования. Причем есть и сторонники выполнения данной процедуры, позволяющей, с их точки зрения, проводить дополнительную селекцию жизнеспособных эмбрионов [20], и противники, считающие, что культивирование предполагает субоптимальные условия, отрицательно сказывающиеся на имплантационном потенциале эмбрионов [21].

Определенные закономерности трансформации функционального статуса высокопотентных клеток после криоконсервирования можно проследить при оценке характера поведения различных типов стволовых элементов костного мозга. Так, при культивировании криоконсервированных в составе костного мозга КОЕф, входящих в состав прогениторных клеток его стромального микроокружения, было установлено [22], что использование одной и той же программы замораживания-отогрева для двух разных криопротекторов (в одинаковой концентрации) вызывало разной степени ингибицию функциональной активности КОЕф. Весьма важен при этом, во-первых, факт строгой корреляции между сохранностью клеток-предшественников стромы, включая КОЕф, МСК, и проявлением функции СКК, что подчеркивает значимость кооперативных взаимодействий между ними при реализации своего функционального потенциала. Во-вторых, это может еще раз подтвердить полипотентность МСК и показать их возможность выступать, как минимум, в двух ипостасях: формировать предшественников СКК и строму, поддерживающую гемопоэз.

Возможность использования в клинической практике уникального потенциала МСК

определяет необходимость проведения исследований по их культивированию и наращиванию в системе *in vitro*. Выполненные в последнее время в нашем институте работы позволили доказать плюрипотентность клеток стромы костного мозга (КСКМ) и их способности дифференцироваться под действием специфических индукторов в остеобласты и хондроциты, а также в нервные клетки, применение которых в клинике дало положительный результат. Был также установлен и ряд интересных «криобиологических» эффектов, согласующихся с предыдущими положениями. В частности, разработан оптимальный метод размножения КСКМ человека в культуре *in vitro*, позволяющий получать до 8 млн КСКМ от одного человека за 2 нед и хранить их в замороженном состоянии до момента необходимости применения. Используя различные режимы криоконсервирования КСКМ (разные криопротекторы, их концентрации, скорости замораживания-отогрева и т. д.), удалось показать, что жизнеспособность клеток была примерно одинаковой (70–75 %) вне зависимости от режима. Вместе с тем, деконсервированные по различным режимам КСКМ имели определенные особенности роста в культуре и дифференцировки в нервные клетки под действием ретиноевой кислоты, т. е. КСКМ, представляющие собой гетерогенную популяцию фибробластоподобных клеток, включающих и небольшой процент стволовых элементов (МСК, КОЕф), по-разному отвечают на действие физико-химических факторов, реализующих свою активность в зависимости от режима криоконсервирования. Это, в свою очередь, может по-разному модифицировать структуру афферентного звена систем сигнализации клеток.

Ранее сотрудниками нашего института было показано, что значительная часть СКК костного мозга (КОЕс) после криоконсервирования теряет важные поверхностные мембранные структуры, определяющие их функциональный статус. Например, после криоконсервирования не более 6 % КОЕс сохраняло способность экспрессировать Thy-1,2 антиген. Этот мембранный маркер ранних кроветворных предшественников участвует в реализации процессов их расселения в кроветворном микроокружении и акцепции регуляторных сигналов нейроэндокринной системы [23]. Причины такого перехода клеток в новое качественное состояние могут быть различные: shedding мембранных структур, конформационные перестройки рецепторных гликопротеиновых комплексов и белок-липидных компонентов мембран под воздействием физико-химических факторов криоконсервирования и т. д. Важно то, что они моделируют ситуацию, которая может быть причиной изменения отклика стволовых элементов в целом как на различные регуляторные сигналы (в системе *in vitro* и *in vivo*), так и кооперативного их взаимодействия со структурами микроокружения в любой его форме. К тому же весьма интересен установленный нами факт, свидетельствующий о том, что стволовые кроветворные элементы после криоконсервирования, сохраняя одни качественные характеристики (например, способность расселяться в микроокружении реципиента), теряют другие (возможность вступать в состояние пролиферации). Это свидетельствует о том, что факторы криоконсервирования в различной степени модифицируют состояние клеточных структур различной специфичности, проявляя ингибирующее влияние на течение мета-

болических процессов. Действительно, скорость «наработки», например, Thy-1,2 антигена в значительной части криоконсервированных СКК существенно снижена по сравнению с нативными клетками [24], подчеркивая тот факт, что после выхода из состояния глубокого холодового анабиоза в кроветворных предшественниках развиваются нелетальные повреждения, вызывающие временную ингибицию их функционального статуса.

Анализируя приведенные данные, можно сделать, как минимум, два важных вывода. Во-первых, такого рода изменения происходят не со всеми стволовыми кроветворными предшественниками, что говорит о существовании в иерархической лестнице стволовых клеток элементов с различным уровнем дифференцировки и функционального статуса, которые как раз и могут определять их криочувствительность. Во-вторых, указанные особенности изменений СКК отмечаются при использовании каких-то конкретных режимов криоконсервирования. А. Rubinshtein и F. Trobaug более 30 лет назад показали, что после замораживания-отогрева суспензия миелокариоцитов как бы «обогащается» стволовыми кроветворными клетками, что обусловлено гибелью в первую очередь более зрелых, дифференцированных клеток костного мозга [25]. Опыт нашей работы по криоконсервированию широкого спектра биообъектов и результаты выполненных в институте исследований не только подтвердили, но и существенно дополнили представление о возможности использования криоконсервирования не только как метода долгосрочного хранения биоматериала, но и о его способности выступать в роли «селективного» фактора, который может управлять его внутренним состоянием (intrinsic

state). Это подтверждено как в отношении самих СКК, так и определяющих их функциональный статус аксессуарно-регуляторных клеток кроветворного микроокружения, гемопоэтических клеток эмбриональной печени, эмбриональных нервных клеток (ЭНК) [16; 22; 26; 27]. Так, например, различные условия криоконсервирования ЭНК обуславливали различный характер роста клеток-предшественников *in vitro* и способность корректировать состояние нейроиммунно-эндокринного комплекса реципиентов с экспериментальной патологией ЦНС аутоиммунной природы. Итак, используя определенные режимы криоконсервирования, можно обеспечивать не только «оптимальную» сохранность стволовых элементов из разных источников и с различным исходным функциональным статусом, но и направлено регулировать его. Важность этого момента заключается еще и в том, что тот или иной уровень потенции криоконсервированных клеток стволового компартмента (тоти-, поли-, мульти- и т. д.) и «пластичность» их поведения *in vitro* либо в системе *in vivo* в ответ на соответствующие регуляторные сигналы может проявляться либо в полной мере, либо с определенными «дефектами». Не исключено, что в связи с этим перед криобиологами возникнет весьма интригующий вопрос, а именно: могут ли они сохранить стволовые клетки после криоконсервирования в состоянии “virgin state”, нужно ли это и в каком случае?

ЛИТЕРАТУРА

1. *Odorico J. S., Kaufman D. S., Thomson J. A.* Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines // *Stem Cells*. — 2001. — Vol. 19. — P. 193-204.
2. *Nichols J. et al.* Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POV transcription factor Oct 4 // *Cell*. — 1998. — Vol. 95. — P. 379-391.

3. *Niwa H., Miyazaki J., Smith A. G.* Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells // *Nature Genet.* — 2000. — Vol. 24. — P. 372-376.

4. *O'Shea K. S.* Embryonic stem cell models of development // *Anat. Rec.* — 1999. — Vol. 257. — P. 32-41.

5. *Мезенхимальные стволовые клетки / Г. Т. Сухих, В. В. Малайцев, Н. М. Богданова, И. В. Дубровина.* — БЭБиМ, 2002. — Т. 133, № 2. — С. 124-130.

6. *Костный мозг как источник получения мезенхимальных клеток для восстановительной терапии поврежденных органов / В. И. Шумаков, Н. А. Онищенко, М. Е. Крашенинников и др.* // *Вест. трансплантол. и искусств. органов.* — 2002. — № 4. — P. 46-53.

7. *Directed differentiation of human embryonic stem cells into hematopoietic colony forming cells. / D. S. Kaufman, R. L. Lewis, R. Aurbach et al.* // *Blood*. — 1999. — Vol. 94 (suppl I, part I of 2). — P. 34a.

8. *Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissue / A. J. Friedenstein, K. V. Petrakova, A. I. Kurolesova, G. P. Frolova* // *Transplantation*. — 1968. — Vol. 6. — P. 230-247.

9. *Schenker J.* Осложнение при лечении бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения // *Пробл. репродукции.* — 1995. — Т. I. — С. 74-79.

10. *Gardner D. K., Lane M.* Towards a single embryo transfer // *Reproductive Biomedicine Online*. — 2003. — Vol. 6, N 4. — P. 470-482.

11. *Беременность и роды после трансплантации деконсервированных эмбрионов человека / В. И. Грищенко, М. П. Петрушко, А. Г. Геродес и др.* // *Пробл. криобиологии.* — 2003. — № 3. — С. 99-102.

12. *Пат. № 182 1118.* РФ. МПК А 01 N 1/02. Способ консервирования эмбрионов млекопитающих / В. И. Грищенко, Н. А. Лучко, В. И. Загнойко, С. Г. Колаева. — Опубл. 1993.

13. *Пат. № 16856.* Украина. МПК А 01N 1/02. Спосіб консервування ембріонів ссавців / В. І. Грищенко, Н. А. Лучко, Ю. В. Калугін, С. В. Коций, Л. А. Хашна. — Опубл. 1997.

14. *Whittingham D.* Survival of mouse embryos after freezing and thawing // *Nature*. — 1971. — Vol. 233. — P. 125-126.

15. *Viability of partially damaged human embryos after cryopreservation / E. Van den Abbeel, M. Camus et al.* // *Hum. Reprod.* — 1997. — Vol. 12, N 9. — P. 1006-1010.

16. *Гемопоэтические клетки эмбриональной печени: (эмбриогенез, трансплантация и криоконсервирование) / В. И. Грищенко, Г. С. Лобынцева, И. А. Вотякова, С. И. Шерешков; АН УССР, Ин-т проблем крио-*

биологии и криомедицины. — К.: Наук. думка, 1988. — 189 с.

17. Белоус А. М., Грищенко В. И., Паращук Ю. С. Криоконсервация репродуктивных клеток. — К.: Наук. думка, 1986. — 206 с.

18. Гольцев А. Н. Влияние факторов криоконсервирования на иммунобиологические свойства кроветворных клеток костного мозга: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Харьков, 1988. — 21 с.

19. Мембранные структуры, определяющие фенотипические характеристики и функциональный статус кроветворных клеток, возможная модификация под действием факторов криоконсервирования. Часть I / А. Н. Гольцев, Е. Д. Луценко, Л. В. Останкова и др. // Пробл. криобиологии. — 1995. — № 3. — С. 11-23.

20. Zeibe S., Bech B., Petersen K. Resumption of mitosis during post-thaw

culture: a key parameter in selecting the right embryos for transfer // Hum. Reprod. — 1998. — Vol. 13. — P. 178-181.

21. Parameters guiding selection of best embryos for transfer after cryopreservation: a reappraisal / F. Guerif, R. Bidault, V. Cadoret et al. // Hum. Reprod. — 2002. — Vol. 17, N 5. — P. 1321-1326.

22. Функциональная активность криоконсервированных кроветворных клеток (КОЕс) в зависимости от компонентного состава миелотрансплантата / А. Н. Гольцев, Л. В. Останкова, Е. Д. Луценко, Т. Г. Дубрава // Пробл. криобиологии. — 1993. — № 4. — С. 34-39.

23. Абрамов В. В. Взаимодействие иммунной и нервной систем. — Новосибирск: Наука; Сиб. отд-ние. — 1988. — 166 с.

24. Гольцев А. Н., Луценко Е. Д. Использование пеннинг-метода для получения обогащенных стволовыми

клетками популяций из криоконсервированного костного мозга // Пробл. криобиологии. — 1995. — № 4. — С. 52-54.

25. Rubmshtein A., Trobaugh F. Ultrastructure of presumptive hematopoietic stem cells // Blood. — 1973. — Vol. 43, N 1. — P. 61-80.

26. Грищенко В. И., Гольцев А. Н., Бабенко Н. Н. Экспериментальный аллергический энцефаломиелит как возможная модель изучения механизма действия продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса при лечении аутоиммунных заболеваний // Пробл. криобиологии. — 2002. — № 2. — С. 34-43.

27. Гольцев А. Н., Гурина Т. М., Бабенко Н. Н. Влияние различных режимов криоконсервирования на некоторые характеристики эмбриональных нервных клеток // Там же. — 2003. — № 1. — С. 46-50.

УДК 616-089.843:57.043

В. И. Грищенко, А. Н. Гольцев, Е. А. Щегельская, Ю. Е. Микунинский, Н. Г. Грищенко

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

В работе на основании результатов собственных исследований и данных литературы проведен анализ структурных и функциональных характеристик клеток, входящих в компартмент стволовых элементов. Приводятся полученные авторами данные о способности клеток стромы костного мозга (КСКМ) дифференцироваться *in vitro* в нервные клетки, которые с успехом применены в клинической практике. На примере эмбриональных и стволовых клеток из других источников (КСКМ, гемопоэтические предшественники) показаны особенности их ответа на факторы криоконсервирования в зависимости от уровня дифференцировки. Сделан вывод, что варьирование условий криоконсервирования определяет характер роста стволовых клеток *in vivo* и *in vitro*.

Ключевые слова: криочувствительность, стволовые клетки, функциональный статус, криоконсервирование.

UDC 616-089.843:57.043

V. I. Grischenko, A. N. Goltsev, Ye. A. Schegelskaya, Yu. Ye. Mikulinsky, N. G. Grischenko

STEM CELL CRYOPRESERVATION

Basing on the results of own investigations and literature data we have carried out the analysis of structural and functional characteristics of cells, being a part of compartment of stem elements. There are presented the data obtained by authors about the capability of bone marrow stromal cells (BMSC) to differentiate *in vitro* into neuronal cells, which are successfully used in clinical practice. Taking as an example the embryonic and stem cells derived from other sources (BMSC, haemopoietic precursors) peculiarities of their response to the cryopreservation factors depending on the differentiation level are shown. Varying of the cryopreservation conditions is shown to determine the character of stem cell growth *in vivo* and *in vitro*.

Key words: cryosensitivity, stem cells, functional status, cryopreservation.

УДК 615.322:(543.645.6+547.454)+612.015.3+616-092.4

О. В. Сторчило, В. К. Напханюк, проф., О. А. Багірова

ВПЛИВ ДЕЯКИХ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ НА ТРАНСПОРТ ВУГЛЕВОДНИХ І ПЕПТИДНИХ СУБСТРАТІВ *IN VITRO*

Одеський державний медичний університет

Вступ

За останні десятиріччя стрімко зріс інтерес до фітотерапевтичних засобів лікування. Це пояснюється насамперед м'я-

кою і комплексною дією рослинних препаратів, бо їх вплив на організм людини є значно суттєвішим, ніж проста сума ефектів вміщуваних у них хімічних речовин. Рослинна

їжа, завдяки високому вмісту в ній біологічно активних речовин, також є своєрідним засобом фармакокорекції метаболічних процесів. Втім, дослідники не завжди акцентують