

Морфологические и функциональные особенности кадаверной гемопоэтической ткани после 20-летней консервации при -196°C

А.А. КОСТЯЕВ, С.В. УТЕМОВ, Н.Л. ЕЖОВА, Н.В. ИСАЕВА

Кировский НИИ гематологии и переливания крови Росмедтехнологий

Morphological and Functional Peculiarities of Cadaveric Hemopoietic Tissue

After 20-years' Preservation at -196°C

A.A. KOSTYAEV, S.V. UTEMOV, N.L. EZHOVA, N.V. ISAYEVA

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Russia

В 80 годах XX столетия разрабатывали и широко использовали способы заготовки и длительного хранения биологического материала от кадаверов в ранние пост-мортальные сроки. На базе Кировского института до 1991 года был создан банк кадаверной гемопоэтической ткани (КГТ).

Цель настоящего исследования – изучение морфологических и функциональных особенностей КГТ после длительного (более 20 лет) хранения с криоконсервантом «Гемжел» в среде жидкого азота.

Были исследованы 7 образцов КГТ. До криоконсервирования жизнеспособные клетки в пробе с витальным красителем составляли от 60 до 91%, после размораживания – 58–89%. Количество восстановленных кадаверных миелокариоцитов после замораживания-отогревания было равным 82%. Морфологический анализ образцов показал, что для деконсервированных клеток характерны: вакуолизация цитоплазмы, снижение нейтрофильной зернистости, увеличение голядерных элементов. В то же время процентное содержание мононуклеаров в исходных и размороженных образцах было близким.

Содержание CD34-позитивных клеток варьировало от 0,47 до 0,53 %, жизнеспособность миелокариоцитов по показателю включения 7-AAD составляла 97,5–98,0%, что несколько ниже нормы. Нами было зарегистрировано снижение интенсивности экспрессии антигенов на размороженных миелокариоцитах, выявленное по показателю интенсивности флуоресценции.

При культивировании был получен стабильный рост клеток в 5 образцах из 7. Отмечен рост 2 видов колоний: гранулоцитарных и макрофагальных, в среднем 67,2 на 10^5 миелокариоцитов. Все клеточные агрегаты, включенные в подсчет, состояли из 100 и более клеток. Однако ни в одном образце не отмечен рост эритроидных колоний. Также не было обнаружено колоний смешанного типа, образующихся из наиболее ранних предшественников 2–5 кроветворных ростков.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что клетки КГТ удовлетворительно переносят процесс криоконсервирования и длительное хранение в жидком азоте под защитой раствора «Гемжел», а миелокариоциты сохраняют способность к восстановлению гемопоэза.

In the 80s of 20 century there have been designed and widely applied the ways for procurement and long-term storage of biological material from cadavers in early post-mortal terms. At the base of Kirov Institute before 1991 there has been established the bank for cadaveric hemopoietic tissue (CHT).

This research was aimed to study the CHT morphological and functional peculiarities after a long-term storage (over 20 years) with “Haemgel” cryopreservative in a liquid nitrogen medium.

There were investigated 7 samples of CHT. Prior to cryopreservation and after thawing the amount of viable cells in a sample with vital dye was from 60 to 91% and 58-89%, correspondingly. The number of recovered cadaveric myelocaryocytes after freeze-thawing was 82%. Morpho-logical analysis of samples has shown the following features for frozen-thawed cells: cytoplasm vacuolisation, decrease in neutrophil granulation and increase in bare nuclear elements. At the same time a percentage content of mononuclears in the initial and frozen-thawed samples was close.

The content of CD34-positive cells varied from 0.47 to 0.53%, myelocaryocyte viability was 97.5–98.0% by 7-AAD inclusion index, that was slightly lower than the norm. We have recorded a decrease in the intensity of antigen expression to frozen-thawed myelocaryocytes, revealed by fluorescence intensity index.

During culturing there was obtained a stable cell growth in 5 samples from 7. The growth of 2 colony types: granulocytes and macrophages, in average 67.2 per 10^5 myelocaryocytes, was noted. All calculated cell aggregates consisted of 100 and more cells. However no sample was with growth of erythroid colonies. No colonies of mixed type, formed from the earliest precursors of 2-5 hemopoietic lineages, were found-out as well.

Thus, the results obtained testify to the fact that the CHT cells endure quite well cryopreservation and a long-term storage in liquid nitrogen under “Haemgel” solution and the myelocaryocytes preserve the capability of hemopoiesis recovery.