

## Создание новых форм иммунологически совместимых трансплантатов, получаемых из пупочного канатика

А.А. ИСАЕВ, А.А. ПРИХОДЬКО, С.Л. КИСЕЛЕВ, М.А. ЛАГАРЬКОВА, И.В. ПОТАПОВ,

И.Н. САБУРИНА, Н.И. НОВИКОВА, В.С. МЕЛИХОВА

*Институт стволовых клеток человека, г. Москва*

## Creation of New Forms of Immunologically Compatible Grafts, Derived from Umbilical Cord

A.A. ISAEV, A.A. PRIKHODKO, S.L., KISELEV, M.A. LAGARKOVA, I.V. POTAPOV,

I.N. SABURINA, N.I. NOVIKOVA, V.S. MELIKHOVA

*Institute of Human Stem Cells, Moscow, Russia*

Проблемы отторжения, иммуносупрессии, подбора иммуносовместимых тканей и органов для трансплантации являются важнейшими в современной трансплантологии. В последнее время идет активный поиск новых источников биоматериала, применение которых позволит преодолеть эти ограничения. Одним из многообещающих подходов является трансплантация аутологичных клеток, поэтому в настоящее время все большее внимание уделяется вопросам банкирования и хранения аутологичных клеток и тканей. Например, гемопоэтические стволовые клетки пуповинной крови, заготавливаемые при рождении ребенка, применяются в качестве аутологичных трансплантатов для успешного лечения более 50 заболеваний, среди которых различные формы лейкозов, иммунодефициты и пр.

Пупочный канатик является структурой, в которой содержатся клетки мезенхимального происхождения, например фибробласты, эндотелиальные клетки пупочной вены (HUVEC). Известно, что фибробласты могут применяться в лечении ожогов, рубцовых дефектов кожи, а HUVEC благодаря их высокому пролиферативному потенциалу – для ревааскуляризации ишемизированных тканей. Поэтому разработка протоколов выделения, культуральной экспансии и банкирования этих клеточных популяций представляется важным шагом на пути к разработке новых аутологичных, иммунологически совместимых трансплантатов для клинического применения.

Нами разработан метод последовательного выделения, культивирования и криохранения двух типов клеток из одного и того же образца пупочного канатика: HUVEC и фибробластоподобных клеток пупочного канатика.

Полученные культуры состояли из пластик-адгезивных клеток диплоидного кариотипа с высокой пролиферативной активностью, прослеженной в течение 4-6 пассажей. Фибробластоподобные клетки экспрессировали виментин, коллаген 1 и 4 типов, альфа-актин, не экспрессировали CD45, CD11b, CD14, обладали низкой экспрессией антигенов гистосовместимости. HUVEC при культивировании имели характерный для эндотелиоцитов фенотип, экспрессировали фактор фон Виллебранда и формировали тубулярные структуры. Выделенные типы клеток были подвергнуты длительному криоконсервированию и разморозке с сохранением морфофункциональных свойств.

Таким образом, предлагаемый нами метод последовательного выделения позволяет получать и сохранять два дополнительных типа клеток из одного образца пупочного канатика (при этом не препятствуя традиционному банкированию пуповинной крови). Полученные клетки могут применяться для лечения различных заболеваний в рамках аутооттрансплантации, расширяя возможности банков персонального хранения и так называемой «биологической страховки».

The problems of rejection, immune suppression and selection of immune compatible tissues and organs for transplantation are the basic ones in contemporary transplantation. Recently there has been an active search of new sources of biomaterial, application of which will enable to overcome these limitations. One of the most promising approaches is the transplantation of autologous cells, therefore nowadays more and more attention is paid to the tasks of banking and storage of autologous cells and tissues. For instance, hemopoietic stem cells of cord blood procured during the birth of a child are applied as autologous grafts for successful treatment of more than 50 diseases, among those are various forms of leucoses, immune deficient states *etc.*

Umbilical cord is the structure where the cells of mesenchymal origin are comprised, e.g. fibroblasts, endothelial cells of umbilical vein (HUVEC). It is known that fibroblasts may be used for treating burns, scar skin defects, and HUVEC due to their high proliferative potential can be applied for revascularization of the tissue underwent the ischemia. Therefore the designing of the protocols of isolation, cultural expansion and banking of these cell populations is an important step on the way to the developing of new autologous, immunologically compatible grafts for clinical application.

We have developed the method of sequential isolation, culturing and cryostorage of two cell types from the same sample of umbilical cord: HUVEC and fibroblast-like cells of umbilical cord.

The obtained cultures comprised the plastic-adhesive cells of diploid karyotype with a high proliferative activity, traced for 4-6 passages. Fibroblast-like cells expressed vimentin, collagen of the 1<sup>st</sup> and 4<sup>th</sup> types, alpha-actin, and did not express CD45, CD11b, CD14, possessed low expression of histocompatibility antigens. HUVEC during culturing had the characteristic for endotheliocytes phenotype, expressed the von Willerbrand factor and formed tubular structures. Isolated cell types were subjected to long-term cryopreservation and thawing with preserving morphofunctional properties.

Thus the proposed by us method of sequential isolation enables to obtain and preserve two additional cell types from one sample of umbilical cord (herewith with no preventing to the banking of cord blood). The obtained cells may be applied for treating different diseases within the frames of autotransplantation with extending the possibilities of personal storage and so-called "biological insurance".