

Изучение влияния низкомолекулярной фракции кордовой крови (до 5 кДа) на фагоцитарную и метаболическую активность деконсервированных нейтрофилов

А.К. ГУЛЕВСКИЙ, О.Л. ГОРИНА, Н.Н. МОИСЕЕВА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Investigation of Influence of Cord Blood Low-Molecular (Below 5 kDa) Fraction on Phagocytic and Metabolic Activities of Frozen-Thawed Neutrophils

A.K. GULEVSKY, O.L. GORINA, N.N. MOISEYEVA

Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Известно, что в сохранившихся клетках даже при оптимальных режимах замораживания после отогрева обнаруживаются нелетальные нарушения метаболизма деконсервированных клеток: нуклеиновых кислот, белков, АТФ и др. Поэтому необходимо восстановление структурно-функциональных свойств клеток в специальных реабилитирующих средах.

Цель работы – изучить влияние низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови (ФКК) и препарата сравнения “Актовегин” в составе реабилитирующих сред на фагоцитарную и метаболическую активность лейкоцитов после криоконсервирования.

Установлено, что фагоцитарный индекс (ФИ) деконсервированных лейкоцитов достоверно снижался по сравнению с нативными клетками в 1,5 раза. После инкубации деконсервированных лейкоцитов в реабилитирующей среде с ФКК (0,15 мг/мл) или “Актовегином” (1,5 мг/мл) ФИ не увеличивался. При изучении поглотительной активности лейкоцитов установлено, что фагоцитарное число (ФЧ) деконсервированных нейтрофилов снижалось по сравнению с ФЧ нативных клеток. После 45 минут инкубации деконсервированных нейтрофилов в среде, содержащей “Актовегин” или ФКК, поглотительная активность фагоцитов увеличивалась в 1,2 раза. Инкубация деконсервированных нейтрофилов с ФКК или “Актовегином” в течение 120 минут приводила к резкому снижению данного показателя, что, вероятно, является следствием интенсивного переваривания стафилококка. В пользу данного предположения свидетельствуют результаты, полученные при изучении коэффициента завершенности фагоцитоза (КФЧ). Показано, что КФЧ деконсервированных нейтрофилов снижался до $0,88 \pm 0,04$ отн. ед. (для нативных клеток – $1,24 \pm 0,05$ отн. ед.). После добавления в среду инкубации деконсервированных лейкоцитов ФКК или “Актовегина” КФЧ фагоцитов увеличивался в 1,7 раз и 1,43 раза соответственно, по сравнению с контролем. Результаты НСТ-теста показали, что процент активированных нейтрофилов (содержащих диформаза) достоверно ($p < 0,05$) уменьшался после криоконсервирования по сравнению с нативными значениями. После добавления в среду инкубации деконсервированных лейкоцитов ФКК или “Актовегина” количество НСТ-положительных клеток достоверно ($p < 0,05$) увеличивалось до $64,00 \pm 2,67$ и $62,80 \pm 1,42\%$ соответственно по сравнению с контролем ($43,2 \pm 1,8\%$).

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о целесообразности включения низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови крупного рогатого скота и “Актовегина” в соответствующих концентрациях в состав реабилитирующих сред для восстановления функционального потенциала деконсервированных лейкоцитов.

It is known that even using of optimal freezing regimens lead to appearance in survived frozen-thawed cells of post-thaw non-lethal metabolic disorders in nucleic acids, proteins, ATP *etc.* That is why thawed cells need to recover their structure functional properties in special rehabilitating media.

The aim of the work was to study the influence of the cord blood low molecular (below 5 kDa) fraction (CBF) and the reference preparation Actovegin as part of rehabilitating media on phagocytic and metabolic activities of leucocytes after freeze-thawing.

It was shown that phagocytic index (PI) of frozen-thawed leucocytes was 1,5 times lower comparing to native cells, the difference was statistically significant. After incubation of frozen-thawed leukocytes in the rehabilitating medium with CBF (0.15 mg/ml) or with Actovegin (1.5 mg/ml) PI did not increase. Study of leucocytes' consumption activity showed that phagocytic number (PN) of frozen-thawed neutrophils decreased comparing to PN of native cells. After 45 min incubation of frozen-thawed neutrophils in the medium, containing either Actovegin or CBF, phagocyte consumption activity was 1.2 times higher. Incubation for 120 min of frozen-thawed neutrophils with either CBF or Actovegin led to a drastic decline of this index, that probably was a consequence of intensive digestion of staphylococci. The data on index of phagocytosis completion (IPC) confirm this assumption. IPC of frozen-thawed neutrophils was shown to decrease down to 0.88 ± 0.04 relative units (for native cells it made 1.24 ± 0.05 relative units). After adding CBF or Actovegin to the incubation medium of frozen-thawed leucocytes IPC was correspondingly 1.7 and 1.43 times higher than the control value. The NBT-test showed that the percentage of activated neutrophils (containing difor-mazan) decreased significantly ($p < 0.05$) after cryopreservation in comparison with the native value. After adding either CBF or “Actovegin” to the incubation medium of frozen-thawed leukocytes the percentage of NBT-positive cells increased significantly ($p < 0.05$) up to $64.00 \pm 2.67\%$ and $62.80 \pm 1.42\%$, correspondingly, as compared to the control ($43.2 \pm 1.8\%$).

Thus, the results obtained allow to conclude the expediency of adding the cattle cord blood low molecular fraction (below 5 kDa) and Actovegin under corresponding concentrations into rehabilitating media for recovering the functional potential of frozen-thawed leucocytes.