

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КРИОХРАНЕНИЯ И СОСТАВА КРИОСРЕДЫ НА ЦИТОТОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЭКСПАНСИРОВАННЫХ ЕК КЛЕТОК

Е. П. Вашкевич, Е. А. Ласюков, Т. В. Шман

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Боровляны, Беларусь

Использование в терапевтических целях криоконсервированных естественных киллерных (ЕК) клеток имеет ряд преимуществ: возможность проведения многократных инфузий клеток, полученных в одной серии, однородное качество клеточного продукта для всех доз. Для хранения ЕК клеток используют замораживающие среды, содержащие диметилсульфоксид (ДМСО) в качестве криопротектора и эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС)/альбумин или АВ-сыворотку человека [1]. Важным показателем качества ЕК клеток после процедуры размораживания является сохранение их функциональной активности.

Целью данной работы был анализ влияния длительности криохранения на цитотоксическую активность (ЦТА) экспансированных *in vitro* ЕК клеток при использовании различных составов сред для криоконсервирования.

Материалы и методы. ЕК клетки получали путем культивирования мононуклеарных клеток периферической крови 6 доноров в присутствии интерлейкина (ИЛ)-2 и облученных фидерных клеток К-562-4-1BBL+мИЛ-21 в полной питательной среде в течение 14–17 сут. После проводили криоконсервирование полученных клеток автоматизированным способом с использованием 4 типов замораживающих сред, содержащих 20% ЭТС, 10% ДМСО в среде RPMI-1640 (№1), 2,5% человеческого сывороточного альбумина (ЧСА), 10% ДМСО в 0,9% растворе натрия хлорида (№2), 40% ЭТС, 10% ДМСО в солевом растворе «Квинтасоль» (№3), 4,5% ЧСА, 5% ДМСО в 10% растворе «Реополиглюкина» (№4). Образцы хранили в парах жидкого азота в течение 1 и 6 мес. До и после криоконсервирования оценивали прямую ЦТА ЕК клеток против нативной линии К-562 методом проточной цитометрии. Соотношение эффектор:мишень составило 1:1, 5:1, 10:1. Все результаты представлены в виде медианы. Для оценки достоверности различий в группах ($p < 0,05$) использовали непараметрические статистические критерии.

Результаты. В ходе проведения исследования выявлено, что ЦТА ЕК клеток достоверно не отличалась в зависимости от длительности криохранения, что справедливо для всех тестируемых замораживающих сред. Также ЦТА ЕК клеток после размораживания не зависела от типа используемой среды для криоконсервирования и составила от 8,1% до 13,6% при соотношении эффектор:мишень 1:1, от 43,3% до 70,7% при соотношении эффектор:мишень 5:1, от 62,4% до 87,6% при соотношении эффектор:мишень 10:1. Однако ЦТА была достоверно снижена ($p < 0,05$) после криохранения как в течение 1, так и 6 мес., по сравнению с показателями ЦТА до замораживания, которые составили 33,3%, 90,5%, 92,3% при соотношении эффектор:мишень 1:1, 5:1 и 10:1, соответственно.

Заключение. Согласно полученным результатам, проведение процедуры криоконсервирования достоверно снижает ЦТА экспансированных ЕК клеток для всех исследованных замораживающих сред. ЦТА ЕК клеток не отличается при краткосрочном (1 мес.) и более длительном (6 мес.) хранении независимо от типа используемой среды для криоконсервирования.

Библиографические ссылки

1. *Lee D. A.* Cellular therapy: adoptive immunotherapy with expanded natural killer cells // *Immunological Reviews*. 2019. Vol. 290, iss. 1. P. 85–99.