

18. Mikhailov B. V. Psikhogenno obuslovlennye narusheniia psikhicheskoi sfery v usloviakh chrezvychainykh situatsii // Ukrainian Bulletin of Psychoneurology. 2015. Vol. 23, Issue 2 (83). P. 71–75.
19. Jager M., Frasch K., Becker T. Adjustment disorders – nosological state and treatment options // Psychiatrische Praxis. 2008. Vol. 35, Issue 5. P. 219–225. doi: <http://doi.org/10.1055/s-2007-986289>
20. Psychosomatic characterization of adjustment disorders in the medical setting: Some suggestions for DSM-V / Grassi L. et. al. // Journal of Affective Disorders. 2007. Vol. 101, Issue 1-3. P. 251–254. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jad.2006.11.011>
21. Miroshnik I. M., Gavrilin E. V., Mikhailov B. V. Informatiionno-energenicheskii yazyk mezhlichnosnogo vzaimodeistvia: Intern. Conf. Mat. // Informational Energy of the Third Millennium. Kyiv-Kryvyi Rih, 2003. P. 128–130.
22. Korolchuk M. S., Korolchuk M. V., Myronets S. M. Psykhologichni osoblyvosti viddalenykh naslidkiv stresohennykh vplyviv [Psychological peculiarities of remote consequences of stress-generating influences]. Kyiv: Kyiv National University of Commerce, 2014. 276 p.
23. Kasper S. SOA03-01 – Understanding and treating depression // European Psychiatry. 2012. Vol. 27. P. 1. doi: [http://doi.org/10.1016/s0924-9338\(12\)75663-8](http://doi.org/10.1016/s0924-9338(12)75663-8)
24. Zhupanova D. A. Uluchshenie komplensa u patsientov s depressiiami (kompleksnaia sistema terapii i otsenka ee effektivnosti) [Better compliance of patients with depressions (comprehensive therapy system and assessment of its effectiveness)]. Ukrainian Bulletin of Psychoneurology. 2015. Vol. 23, Issue 3 (84). P. 68–73.

Дата надходження рукопису 29.05.2018

Olena Samoilova, Assistant, Department for Psychiatry, Narcology, Neurology and Medical Psychology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Svobody sq., 6, Kharkiv, Ukraine, 61022
E-mail: exses@email.ua

Volodymyr Ponomariov, MD, Professor, Head of Department, Department for Psychiatry, Narcology, Neurology and Medical Psychology at V. N. Karazin Kharkiv National University, Svobody sq., 6, Kharkiv, Ukraine, 61022
E-mail: v.i.ponomaryov@ukr.net

УДК 615.387:615.072+612.119+615.077+606

DOI: 10.15587/2519-4798.2018.138222

ПРОГНОСТИЧНА ОЦІНКА РІВНЯ КРІОЧУТЛИВОСТІ ГЕМОПОЕТИЧНОЇ ТКАНИНИ ПУПОВИННОЇ КРОВІ ЗА МАРКЕРАМИ АКТИВНОСТІ ПРООКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ

© Т. О. Калиниченко

Мета. Дослідити зв'язок рівня кріочутливості транспланта гемопоетичної тканини (ГТ) пуповинної крові (ПК) людини за показниками втрати гранулоцитарно-макрофагальних клітин-попередників гемопоезу (ГМ-КПП) з рівнем активності прооксидантних процесів у цільній крові до початку її кріоконсервування.

Методи дослідження. Кріоконсервування виділеної фракції ядровмісних клітин ПК здійснювали методом повільного заморожування під захистом кріопротектора диметилсульфоксиду у кінцевій концентрації 5%. Втрату ГМ-КПП визначали за різницею загального вмісту колоній та кластерів до кріоконсервування та після відтаювання зразка в короткостроковій культурі тканини. Активність прооксидантних процесів у ПК досліджували за біохімічними маркерами продуктів пероксидації ліпідів (ПОЛ), що визначали спектрофотометричним методом за концентрацією субстратів (ізолюваних подвійних зв'язків – ППЗ), проміжних (дієнових, триєнових, оксодієнових кон'югатів – ДК, ТК, ОДК, відповідно) та кінцевих продуктів типу основ Шиффа (ШО) для нейтральних ліпідів та фосфоліпідів. Аналіз даних здійснений за моделями аналітичного групування, регресійного аналізу, взаємної спряженості.

Результати. Продемонстровано, що рівень кріочутливості ГТ ПК за втратою ГМ-КПП має прямі кореляційні зв'язки з показниками активності ПОЛ (від середнього до високого рівня значущості). За умови високих рівнів показників ПОЛ в ПК до початку кріоконсервування істотно підвищується відносний ризик (ВР) втрати ГМ-КПП. Зокрема, у разі пероксидації фосфоліпідів ВР складає: для ППЗ – 5,29; 95% ДІ: 2,69–10,38; $p < 0,001$; ДК – 5,73; 95% ДІ: 2,88–11,40; $p < 0,001$; ТК і ОДК – 2,81; 95% ДІ: 1,72–4,60; $p < 0,001$, ШО – 1,92; 95% ДІ: 1,16–3,18; $p < 0,01$, відповідно.

Висновки. Оцінка рівня активності прооксидантних процесів у ПК з використанням біохімічних маркерів іще до початку процедури заморожування має цінність у зв'язку з можливістю створення раннього прогнозу кріочутливості ГТ, що може бути корисним для вибору тактики кріоконсервування

Ключові слова: гемопоетична тканина пуповинної крові, кріочутливість, перекисне окислення ліпідів, гранулоцитарно-макрофагальні клітини-попередники гемопоезу, низькотемпературні банки пуповинної крові

1. Вступ

Трансплантація гемопоетичної тканини (ГТ) – метод, що надійно увійшов у сучасні стандарти лікування багатьох тяжких захворювань [1, 2]. Зростання активності у цій сфері відбувається завдяки глобалізації аналітики, тісній співпраці вчених, клініцистів, взаємодії національних та міжнародних реєстрів стовбурових гемопоетичних клітин, діяльності чисельних професійних об'єднань [3, 4]. Зокрема, статусу пріоритетності наукових розробок у галузі медицини набули клітинні технології як такі, що сприяють впровадженню новітніх методів лікування.

Вирішення проблеми забезпечення алогенної трансплантації ГТ реципієнтам, для яких не знайдено гістосумісних донорів кісткового мозку та стовбурових клітин периферичної крові, можливе за рахунок такого джерела як пуповинна кров (ПК) людини, що отримують після народження дитини [5]. Попри те, що зберігання ПК у низькотемпературних донорських банках ГТ регламентується міжнародними стандартами таких галузей медицини як трансфузіологія та трансплантологія, деякі проблеми, пов'язані з цією діяльністю, все ще потребують вирішення. Так, одним з основних дискусійних питань є методологічні основи оцінки якості та прогноз збереження трансплантаційного потенціалу ПК в процесі криоконсервування, що і стало підґрунтям актуальності проведених досліджень.

2. Літературний огляд

За останні 25 років значного розповсюдження в якості джерела ГТ для трансплантацій отримало використання ПК [6]. Показаннями для застосування є аплазія ГТ внаслідок захворювання або після жорстких режимів хімотерапії та/ або радіотерапії, а також при деяких вроджених хворобах [5]. Спектр застосування трансплантацій ПК постійно розширюється [7]. У зв'язку з тим, що криоконсервування (за температур нижче мінус 120 °С) дозволяє зберігати трансплантаційний матеріал тривалий період часу, забезпечення клінічних потреб зазвичай здійснюється через громадські (суспільні) донорські низькотемпературні банки фенотипованої ПК [8]. На сьогодні в світі вже більше 700 тис. одиниць трансплантатів ПК передані в громадське користування, понад 40 тис. з яких застосовані у клініці. При цьому про позитивний віддалений результат повного одужання пацієнтів повідомляють більш ніж у 25 000 випадків [9]. Разом з тим, результати клінічного застосування цієї ГТ висвітлюють цілий ряд проблем галузі, серед яких необхідність впровадження стандартизації, точності, надійності та відтворюваності методик для оцінки клінічної придатності одиниць криоконсервованої ГТ ПК [10]. У результаті чого оцінка якості, розробка та валідація методик акумулюють значну частину коштів, часу та зусиль, що витрачаються на діяльність таких банків сьогодні. Адже заготівля та застосування клітинних технологій криоконсервування мають на меті забезпечення успішного приживлення гемопоетичних стовбурових клітин, що

веде до відновлення у реципієнта всіх видів клітин крові та імунгемопоезу до нормального рівня функціонування.

На даному етапі базовими тестами для характеристики зразків, що призначені для зберігання і трансплантації є загальний вміст ядерних клітин, їх життєздатність, вміст колонієутворюючих попередників гемопоезу, а також CD34⁺-клітин у одиниці ГТ ПК [11].

Однак, проблема полягає у тому, що показники кількості клітин та їх життєздатність тільки опосередковано можуть свідчити про біологічний потенціал ГТ. У той же час вміст CD34⁺-клітин, хоча за своїм загальним значенням теоретично повинна підмінити собою показники поширеності стовбурових гемопоетичних клітин у тому чи іншому трансплантаті, але при цьому є дуже варіабельною величиною та, як виявилось, при співставленні з клінічними результатами, погано корелює з функціональною ефективністю трансплантата [12, 13].

Тому, за взаємною згодою фахівців в галузі трансплантаційних технологій, найбільш інформативними сьогодні вважаються культуральні методики, які дозволяють робити висновок про збереженість комітованих мієлоїдних попередників за вмістом їх еквіваленту – гранулоцитарно-макрофагальних колоніє-/кластероутворюючих одиниць (далі – гранулоцитарно-макрофагальних клітин-попередників гемопоезу (ГМ-КПГ)) в кількісному та функціональному відношенні. Такі дослідження визнані найбільш адекватним спрощеним способом оцінки збереженості як гемопоетичних клітин, так і трансплантаційного потенціалу одиниці ГТ ПК в цілому [14]. Визначення вмісту зазначених клітин в культурі тканини *in vitro* для характеристики якості одиниці ПК є обов'язковою вимогою організацій, що опікуються стандартизацією [15]. Однак проблеми, пов'язані з високими коефіцієнтами варіації таких досліджень, тобто з відтворюваністю та точністю, на жаль, все ще не подолані [16]. Як наслідок, існують труднощі міжлабораторного порівняння результатів оцінки гемопоетичного потенціалу зразків [17].

Зусилля у напрямку пошуку нових ефективних форм для оцінки якості зразків ПК в цілому не припиняються. Так, беручи до уваги те, що основою прийняття рішення лікарем щодо застосування тої чи іншої одиниці ПК при трансплантації повинна бути активність стовбурових клітин, було запропоновано використання обов'язкового виділення фракції мононуклеарів, збагаченої стовбуровими клітинами лімфогемопоезу, з їх подальшим тестуванням на метаболічну життєздатність та функціональну активність [18]. Але складність та висока вартість є основними вадами, що перешкоджають широкому впровадженню запропонованого методу.

Серед інших ідей для реалізації у цьому напрямі окремої уваги заслуговує система оцінки «Апгар ПК» (АПК), яка стала першим запропонованим алгоритмічним інструментом для відбору трансплантата ПК [19]. За цією системою підрахунок балів здійс-

нюється при комплексному аналізі множинних характеристик трансплантата, що, на думку авторів, забезпечує більш чутливий метод оцінки потенції окремого трансплантата ПК. Суть методу полягає у підрахунку комплексу балів і базується на поєднанні результатів тестування ГТ до заморожування (за вмістом колонієутворюючих клітин, ядерних, CD34⁺-клітин та об'ємом одиниці ПК) з результатами після її розморожування (за вмістом колонієутворюючих клітин, ядерних, CD34⁺-клітин та мононуклеарів). Автори повідомили про прогностичну цінність розробленої ними системи довільної оцінки АПК для приживлення нейтрофілів після трансплантації ПК з переверненням результатів існуючих більш традиційних методів відбору одиниць, що супроводжується значним зниженням невдач приживлення. Тобто, ця система підрахунку може стати в нагоді при прогнозуванні ступеня ймовірності успішного початкового клінічного результату у частині нейтрофільного приживлення, що, на жаль, не завжди співпадає з віддаленими результатами. Поки що не знайдено способу, що надав би можливість реального уявлення про функціональну активність стовбурових клітин, якої вони можуть набути вже після потрапляння в організм реципієнта. У цьому сенсі ефективність трансплантата ПК в цілому потребує подальших досліджень.

Застосування технологій довгострокового зберігання ПК зобов'язує до вирішення додаткових питань, пов'язаних з прогнозуванням ступеня індивідуальної чутливості клітин до факторів кріоконсервування, бо, як відомо, вихідні параметри якості перед початком заморожування мають критичне значення для повноцінності та клінічної ефективності розмороженого матеріалу.

Раніше було показано, що існують кореляційні зв'язки між зниженням показників життєздатності клітин (як на підготовчих до кріоконсервування етапах, так і у розморожених клітинних компонентах) та посиленням пероксидації нейтральних ліпідів та фосфоліпідів, тобто активності прооксидантних процесів [20], біохімічними маркерами якого є підвищення показників перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). У зв'язку з тим, що активацію останніх вважають однією з причин, що безпосередньо обумовлюють порушення бар'єрних властивостей біомембран при патологічних станах [21], показники активності ПОЛ визнані однією з характеристик адаптаційних можливостей клітини у екстремальних умовах. При кріоконсервуванні вони також можуть бути пов'язаними з ризиком підвищеної кріочутливості клітинних елементів ПК, що спостерігається у окремих індивідуальних випадках [22].

Отже, до цього часу, на жаль, не дивлячись на всі методичні зусилля, основна проблема, що полягає у точності та надійності характеристики одиниці ГТ ПК перед її зберіганням та використанням, не є вирішеною. Зрозуміло, що тільки інтегральний результат комплексної оцінки якості трансплантата ПК може бути підставою для прийняття рішення, а

пошук додаткових ефективних методик не втрачає своєї актуальності.

3. Мета дослідження

Дослідити зв'язок рівня кріочутливості трансплантата гемопоетичної тканини (ГТ) пуповинної крові (ПК) людини за показниками втрати гранулоцитарно-макрофагальних клітин-попередників гемопоезу (ГМ-КПГ) з рівнем активності прооксидантних процесів у цільній крові до початку її кріоконсервування.

4. Матеріали і методи дослідження

Проаналізовано показники зразків ПК людини (n=78), що досліджували у лабораторії кріоконсервування гемопоетичних клітин ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» протягом 2010–2017 років. Об'єктом досліджень була цільна стабілізована розчином ПК здорових доношених новонароджених та фракція ядровмісних клітин (ЯВК) ПК до та після її заморожування. Усі вимоги до відбору донора та лабораторного тестування дотримані у відповідності до методичних рекомендацій ДУ «ІГТ НАМН» [23].

Збір матеріалу проводили на основі науково-практичного співробітництва між Інститутом та муніципальними пологовими будинками м. Києва. Заготівлю здійснювали при фізіологічних пологах за умови завчасного надання інформованої згоди вагітною. Для отримання ПК використано метод заготівлі в „замкненій” системі в пластикові мішки для крові та її компонентів із стабілізуючим розчином ЦФДА-1 в об'ємі 21 мл. Кров набирали самопливом шляхом дренажу пупкової вени материнського дистального кінця пуповини за допомогою голки, що з'єднана з контейнером для заготівлі крові, у перші 30–60 с після народження дитини та відділення її від посліду шляхом накладання стерильних лігатур, перев'язування та перерізання пуповини, не порушуючи ходу фізіологічних пологів. ПК ретельно змішували із стабілізатором та зберігали в термоізоляційному контейнері при температурі (21,5±3,5) °С не більше 24 год з моменту заготівлі.

Фракцію ЯВК отримували з цільної ПК з використанням методики прискореної седиментації та видалення еритроцитів. Заморожування здійснювали у кріопробірках під захистом кріопротектора диметилсульфоксиду (ДМСО, Sigma, США) у кінцевій концентрації 5 % (об/об). Програмне заморожування проводили зі швидкістю 1,0±0,5 °С/хв від температури 10 °С до –156 °С з наступним занурюванням у рідкий азот (за технологією ДУ “ІГТ НАМН” [24]) та зберігали при температурі мінус 196 °С у рідкій фазі азоту від 1 до 5 місяців. Розморожували матеріал на водяній бані при температурі 38,0±0,5 °С.

Втрату гранулоцитарно-макрофагальних клітин-попередників гемопоезу (ГМ-КПГ) вираховували за сумарною втратою колоніє- та кластероутворюючих одиниць у відсотках, досліджуючи нативний і кріоконсервований матеріал. При постановці культу-

ри у напіврідкому агарі використовували живильне середовище Marrow MAX (Gibco) з густиною посіву $1 \cdot 10^5$ клітин/мл. Культивування проводили при температурі 37°C в умовах абсолютної вологості в присутності 5 % концентрації CO_2 протягом 14 діб. Підрахунок колоній і кластерів здійснювали через 12–14 діб від початку культивування під малим збільшенням в інвертованому мікроскопі [25].

Активність процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) досліджували в нативних зразках ПК перед їх кріоконсервуванням. Вміст продуктів ПОЛ визначали за спектрофотометричним методом І. А. Волчегорського зі співавт. [26] у нашій модифікації [27]. При цьому здійснювали диференційоване визначення переокислення ацилів в структурі фосфоліпідів (екстрагованих до ізопропанольної фази) і неетерифікованих інтермедіатів пероксидації жирних кислот нейтральних ліпідів (екстрагованих до гептанової фази). Оптичну щільність ліпідного екстракту вимірювали на спектрофотометрі Helios α (Англія) при наступних довжинах хвиль: концентрацію ізольованих подвійних зв'язків (ІПЗ) в екстрагованих жирних кислотах – субстратах ПОЛ – за поглинанням при 220 нм, вміст дієнових кон'югатів (ДК) – при довжині хвилі 232 нм; триєнових (ТК) – при 268 нм, оксодієнових (ОДК) – при 278 нм, а також кінцевих продуктів ПОЛ типу основ Шиффа (ШО) – при довжині хвилі 400 нм. Показники вмісту продуктів ПОЛ у суспензіях ЯВК ПК надані у перерахунку на кількість ЯВК (10^{-6} Од.).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням комп'ютерних програм Excel XP (Microsoft, USA), а також STATISTICA 10 (StatSoft, USA). Оцінку значущості відмінностей середніх величин здійснювали в залежності від нормальності розподілу величин: при їх нормальному розподілі – за t-критерієм Стьюдента для непов'язаних між собою варіаційних рядів, а також у разі відхилення гіпотези про нормальність розподілу – непараметричні критерії (U-критерій Манна-Уїтні, критерій Колмогорова-Смірнова). Аналіз кореляційних зв'язків здійснювали за моделлю аналітичного групування та регресійного аналізу. Для оцінки зв'язків між кількісними ознаками застосовували метод непараметричного кореляційного аналізу за коефіцієнтом кореляції Спірмена. Розрахунок відношення шансів здійснювали за аналізом взаємної спряженості [28].

5. Результати досліджень

Результати оцінки асоціативних зв'язків між показниками активності перекисного окислення нейтральних ліпідів та фосфоліпідів, що отримані при дослідженні зразка ПК до початку кріоконсервування, із втратою ГМ-КПП у процесі кріоконсервування представлені у табл. 1.

Виявлено наявність прямої асоціації (від середнього до високого рівня значущості) всіх досліджених факторів із втратою комітованих клітин-попередників гемопоезу в процесі кріоконсервування (рис. 1).

Таблиця 1

Зв'язок між показниками ПОЛ у нативній ПК та загальною втратою ГМ-КПП в процесі заморожування-відтаювання

Факторні ознаки-показники ПОЛ (нейтральних ліпідів – н, фосфоліпідів – ф)	Коефіцієнт кореляції Спірмена (результативна ознака – загальна втрата ГМ-КПП)	p
ІПЗн	0,541	$p < 0,001$
ДКн	0,500	$p < 0,001$
ТКн	0,474	$p < 0,001$
ОДКн	0,489	$p < 0,001$
ШОн	0,687	$p < 0,001$
ІПЗф	0,884	$p < 0,001$
ДКф	0,835	$p < 0,001$
ТКф	0,671	$p < 0,001$
ОДКф	0,718	$p < 0,001$
ШОф	0,537	$p < 0,001$

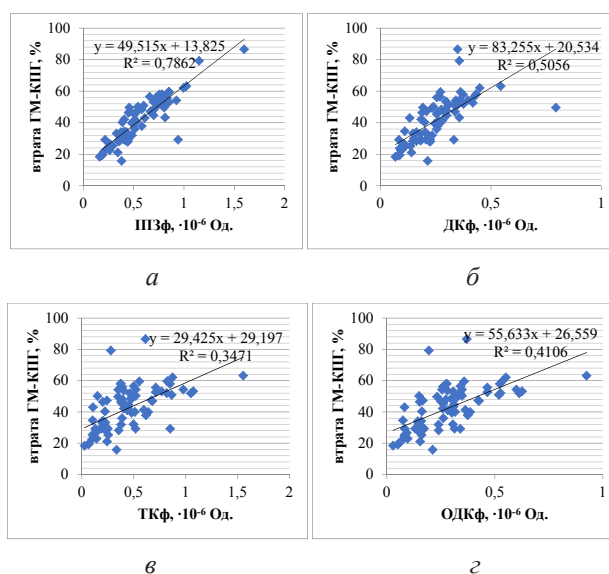


Рис. 1. Залежність втрати ГМ-КПП в процесі кріоконсервування від вмісту продуктів пероксидації фосфоліпідів у нативній ПК:

а – від ІПЗф; б – ДКф; в – ТКф; г – ОДКф

Розподіл на групи за загальною втратою гранулоцитарно-макрофагальних клітин-попередників гемопоезу (ГМ-КПП) здійснювали за ознакою сумарної втрати колоній і кластерів, вираженою у відсотках: I група – до 40, II група – зразки, де втрата складала $\geq 40\%$ клітин. У загальній групі зразків втрата ГМ-КПП складала від 15,8 до 86,6 %. Результати порівняння двох груп зразків ПК представлені в табл. 2.

Для оцінки ризиків втрати ГМ-КПП в процесі кріоконсервування при різних вихідних даних активності ПОЛ зразки ПК були розподілені на дві рівні групи у порядку зростання окремого показника. Характеристики груп представлені у табл. 3.

Таблиця 2
Порівняльна характеристика зразків I та II груп при розподілі за втратою ГМ-КПП в результаті кріоконсервування

Показник	Група за втратою ГМ-КПП (%)		p	
	I (n=34)	II (n=44)		
втрата ГМ-КПП (%)	28,5±6,0	52,2±9,0	p<0,05	
Перекисне окислення фосфоліпідів (×10 ⁻⁶ Од)	ІПЗф	0,374±0,144	0,715±0,217	p<0,001
	ДКф	0,169±0,067	0,324±0,110	p<0,001
	ТКф	0,266±0,188	0,557±0,281	p<0,001
	ОДКф	0,170±0,096	0,356±0,158	p<0,001
	ШОф	0,012±0,006	0,022±0,013	p<0,001

Таблиця 3
Характеристика основної та контрольної груп за показниками ПОЛ при пероксидації фосфоліпідів

Показник, ×10 ⁻⁶ Од.		Група		p
		контрольна (n=39)	основна (n=39)	
ІПЗф	M±S	0,381±0,106	0,744±0,137	p<0,001
	95 % ДІ	0,340–0,423	0,691–0,797	
ДКф	M±S	0,178±0,063	0,370±0,106	p<0,001
	95 % ДІ	0,153–0,202	0,329–0,411	
ТКф	M±S	0,233±0,116	0,680±0,191	p<0,001
	95 % ДІ	0,188–0,278	0,607–0,754	
ОДКф	M±S	0,158±0,071	0,399±0,105	p<0,001
	95 % ДІ	0,131–0,186	0,359–0,440	
ШОф	M±S	0,009±0,003	0,030±0,022	p<0,001
	95 % ДІ	0,007–0,010	0,021–0,039	

При високих вихідних (до початку кріоконсервування) рівнях показників активності ІПЗф, ДКф, ТКф, ОДКф, ШОф суттєво підвищується відносний ризик (ВР) втрати ГМ-КПП (ВР=5,29±0,34; 95 % ДІ: 2,69–10,38, p<0,001; ВР=5,73±0,35; 95 % ДІ: 2,88–11,40, p<0,001; ВР=2,81±0,56; 95 % ДІ: 1,72–4,60, p<0,001; ВР=2,81±0,56; 95 % ДІ: 1,72–4,60, p<0,001; ВР=1,92±0,26; 95 % ДІ: 1,16–3,18, p<0,01, відповідно).

Тобто, виявлення у фракції фосфоліпідів показників, що мають значення рівня основної групи, свідчить про статистично значуще підвищення ризику значної втрати ГМ-КПП (≥40 % від їх вихідного вмісту) в процесі кріоконсервування під захистом 5 % диметилсульфоксиду. У разі отримання низьких показників ПОЛ, що відносяться до значень, показаних у контрольній групі, ймовірність розвитку втрати ГМ-КПП в процесі кріо-

консервування, що пов'язана саме з біохімічними маркерами, є низькою.

6. Обговорення результатів дослідження

Неодноразово було показано, що відповідна якість або потенція ГТ ПК корелює з кількістю колонієутворюючих одиниць, які виявлені в культурі тканини *in vitro*, і є прогностичною ознакою приживлення ГТ при її трансплантації реципієнтові [29]. Тому, характеристикою втрати репопуляційної спроможності трансплантата в процесі кріоконсервування може слугувати показник загальної втрати ГМ-КПП, який у цьому дослідженні був вибраний у якості результативної ознаки.

Дослідження свідчить, що у групі зразків, де в результаті кріоконсервування втрата ГМ-КПП перевищувала 40 %, були виявлені значно вищі вихідні показники активності ПОЛ. Зростання ризиків втрати клітин-попередників гемопоезу при підвищених показниках прооксидантної активності у нативній ПК, а також наявність прямих кореляційних зв'язків між цими перемінними свідчить про прогностичну перспективність факторних ознак показників ПОЛ як біохімічних маркерів для різного рівня кріочутливості гемопоетичної тканини ПК, що визначають ще до початку процедури заморожування.

Нещодавні дослідження продемонстрували, що прооксидантно-антиоксидантний статус крові новонародженої дитини залежить від багатьох чинників, навіть від швидкості накладання затискача на пуповину в ході пологів [30]. В умовах розвитку тканинного дефіциту кисню відбувається активація процесів утворення високореактивних токсичних вільних радикалів, або продуктів, що їх генерують, та є серйозною загрозою для біологічних мембран клітини. При цьому страждають транспортна, захисна функції, підвищується мікрів'язкість, змінюється проникність і, загалом, процеси життєдіяльності клітини [31]. Тому, є цілком зрозумілим, що подальші адаптаційні можливості клітин багато в чому залежать від ступеня інтенсифікації зазначених процесів.

Важливість раннього прогнозування ступеня кріочутливості ГТ ПК людини обумовлена необхідністю формування стратегії й тактики щодо обсягу запроваджених кріозахисних технологій. Так, у разі високої ймовірності значної втрати ГМ-КПП виникає можливість попередження таких наслідків шляхом включення в процес підготовки до кріоконсервування додаткових методів захисту [32].

Продовження досліджень у цьому напрямку дозволить здійснити поглиблений аналіз факторів, що впливають на формування різних рівнів кріочутливості гемопоетичної тканини ПК, та розробити стратегію їх оцінки.

7. Висновки

1. Встановлено, що рівень показників активності ПОЛ у нативній ПК має прямі кореляційні зв'язки зі втратою ГМ-КПП в процесі кріоконсервування. При високих концентраціях продуктів ПОЛ до початку

кріоконсервування ризик втрати клітин-попередників зростає у 2–5 разів, що свідчить про підвищену кріочутливість конкретного зразка ПК.

2. Оцінка рівня активності прооксидантних процесів за біохімічними маркерами ПОЛ має цінність при створенні раннього прогнозу кріочутливості ГТ, що може бути корисним для прийняття рішення щодо тактики кріоконсервування ПК у кожному окремому випадку.

3. Включення в медичну практику раннього прогнозування ступеня кріочутливості ГТ за біохімічними маркерами ПОЛ до клітинних технологій

низькотемпературного зберігання сприятиме підвищенню ефективності приживлення трансплантата ПК при його клінічному застосуванні.

Подяки

Автор висловлює щирю вдячність керівникові групи біохімії ДУ «ІГТ НАМН», провідному науковому співробітнику, кандидату біологічних наук Аношиній М. Ю., а також науковому співробітнику лабораторії імуногенетики ДУ «ННЦРМ НАМН» Балан В.В. за співпрацю у проведенні біохімічних та культуральних досліджень.

Література

1. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually / Passweg J. R. et. al. // *Bone Marrow Transplantation*. 2016. Vol. 51, Issue 6. P. 786–792. doi: <http://doi.org/10.1038/bmt.2016.20>
2. Copelan E. A. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation // *New England Journal of Medicine*. 2006. Vol. 354, Issue 17. P. 1813–1826. doi: <http://doi.org/10.1056/nejmra052638>
3. One million haemopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study / Gratwohl A. et. al. // *The Lancet Haematology*. 2015. Vol. 2, Issue 3. P. e91–e100. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/s2352-3026\(15\)00028-9](http://dx.doi.org/10.1016/s2352-3026(15)00028-9)
4. Hematopoietic stem cell transplantation activity worldwide in 2012 and a SWOT analysis of the Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation Group including the global survey / Niederwieser D. et. al. // *Bone Marrow Transplantation*. 2016. Vol. 51, Issue 6. P. 778–785. doi: <http://doi.org/10.1038/bmt.2016.18>
5. Kalynychenko T. O. Umbilical cord blood banking in the worldwide hematopoietic stem cell transplantation system: perspectives for Ukraine // *Experimental Oncology*. 2017. Vol. 39, Issue 3. P. 164–170. URL: <http://exp-oncology.com.ua/wp-content/uploads/2017/09/2394.pdf?upload=PMID:28967644>
6. Ballen K. K., Gluckman E., Broxmeyer H. E. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond // *Blood*. 2013. Vol. 122, Issue 4. P. 491–498. doi: <http://doi.org/10.1182/blood-2013-02-453175>
7. Early and late outcomes after cord blood transplantation for pediatric patients with inherited leukodystrophies / Van den Broek B. T. A. et. al. // *Blood Advances*. 2018. Vol. 2, Issue 1. P. 49–60. doi: <http://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017010645>
8. Rao M., Ahrlund-Richter L., Kaufman D. S. Concise Review: Cord Blood Banking, Transplantation and Induced Pluripotent Stem Cell: Success and Opportunities // *Stem Cells*. 2011. Vol. 30, Issue 1. P. 55–60. doi: <http://doi.org/10.1002/stem.770>
9. Ballen K. Update on umbilical cord blood transplantation // *F1000Research*. 2017. Vol. 6. P. 1556. doi: <http://doi.org/10.12688/f1000research.11952.1>
10. Guidelines for the development and validation of new potency assays for the evaluation of umbilical cord blood / Spellman S. et. al. // *Cytotherapy*. 2011. Vol. 13, Issue 7. P. 848–855. doi: <http://doi.org/10.3109/14653249.2011.571249>
11. Barker J. N., Scaradavou A., Stevens C. E. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies // *Blood*. 2009. Vol. 115, Issue 9. P. 1843–1849. doi: <http://doi.org/10.1182/blood-2009-07-231068>
12. Variability in subjective review of umbilical cord blood colony forming unit assay / Powell K. et. al. // *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2016. Vol. 90, Issue 6. P. 517–524. doi: <http://doi.org/10.1002/cyto.b.21376>
13. Detecting primitive hematopoietic stem cells in total nucleated and mononuclear cell fractions from umbilical cord blood segments and units / Patterson J. et. al. // *Journal of Translational Medicine*. 2015. Vol. 13, Issue 1. doi: <http://doi.org/10.1186/s12967-015-0434-z>
14. Total Colony-Forming Units Are a Strong, Independent Predictor of Neutrophil and Platelet Engraftment after Unrelated Umbilical Cord Blood Transplantation: A Single-Center Analysis of 435 Cord Blood Transplants / Page K. M. et. al. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2011. Vol. 17, Issue 9. P. 1362–1374. doi: <http://doi.org/10.1016/j.bbmt.2011.01.011>
15. Fifth edition NetCord-FACT international standards for cord blood collection, banking, and release for administration. 2013. URL: <https://www.factweb.org/forms/store/ProductFormPublic/fifth-edition-netcord-fact-international-standards-for-cord-blood-collection-banking-and-release-for-administration-print-version>
16. Current practices and prospects for standardization of the hematopoietic colony-forming unit assay: a report by the cellular therapy team of the Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative / Pamphilon D. et. al. // *Cytotherapy*. 2013. Vol. 15, Issue 3. P. 255–262. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jcyt.2012.11.013>
17. Multiple-laboratory comparison of in vitro assays utilized to characterize hematopoietic cells in cord blood / Moroff G. et. al. // *Transfusion*. 2006. Vol. 46, Issue 4. P. 507–515. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2006.00758.x>
18. Rich I. N. Improving Quality and Potency Testing for Umbilical Cord Blood: A New Perspective // *STEM CELLS Translational Medicine*. 2015. Vol. 4, Issue 9. P. 967–973. doi: <http://doi.org/10.5966/sctm.2015-0036>
19. The Cord Blood Apgar: a novel scoring system to optimize selection of banked cord blood grafts for transplantation (CME) / Page K. M. et. al. // *Transfusion*. 2011. Vol. 52, Issue 2. P. 272–283. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03278.x>

20. Окисний гомеостаз та збереженість гемопоетичної тканини пуповинної крові на етапах процесу кріоконсервування трансплантаційного матеріалу / Калиниченко Т. О. та ін. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. 2012. № 21 (3). С. 111–116.
21. Владимиров Ю. А. Биологические мембраны и незапрограммированная гибель клетки // Соросовский образовательный журнал. Биология. 2000. Т. 6, № 9. С. 2–9. URL: http://window.edu.ru/resource/554/20554/files/0009_002.pdf
22. Дослідження кріочутливості клітин пуповинної крові: зв'язок з окремими антигенними детермінантами груп крові / Калиниченко Т. О. та ін. // ScienceRise. 2017. Т. 12, № 1. С. 14–20. doi: <http://doi.org/10.15587/2313-8416.2017.118384>
23. Система контролю якості кріоконсервованих ядровмісних клітин пуповинної крові для алогенного застосування: мет. рек. / Перехрестенко П. М. та ін. Київ, 2009. 21 с.
24. Калиниченко Т. А., Аношина М. Ю., Балан В. В. Преимущества криоконсервирования гемопоэтической ткани пуповинной крови с применением оптимизированного метода снижения объема образца // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. 2017. Т. 3, № 4. С. 734–743.
25. Балашова В. А. Глава 6. Клеточные культуры / ред. Абдулкадыров К. М. // Гематология: Новейший справочник. Москва: Изд-во Эксмо; Санкт-Петербург: Изд-во Сова, 2004. 928 с.
26. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан – изопропанольных экстрактах крови / Волчегорский И. А. и др. // Вопросы медицинской химии. 1989. Т. 35, № 1. С. 127–131.
27. Аношина М. Ю., Калиниченко Т. О., Глухенька Г. Т. Оцінка перекисного окислення ліпідів у зразках кріоконсервованої пуповинної крові // Український журнал гематології та трансфузіології. 2011. Т. 11, № 3. С. 12–15.
28. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика: уч. пос. / ред. Леонова В. П. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 216 с.
29. Cell dose and speed of engraftment in placental/umbilical cord blood transplantation: graft progenitor cell content is a better predictor than nucleated cell quantity / Migliaccio A. R. et. al. // Blood. 2000. Vol. 96, Issue 8. P. 2717–2722.
30. Is early cord clamping, delayed cord clamping or cord milking best? / Vatansever B. et. al. // The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2017. Vol. 31, Issue 7. P. 877–880. doi: <http://doi.org/10.1080/14767058.2017.1300647>
31. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view // Nutrition Reviews. 2012. Vol. 70, Issue 5. P. 257–265. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x>
32. Спрощений метод кріоконсервування гемопоетичної тканини пуповинної крові / Калиниченко Т. О. та ін. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. 2017. № 27. С. 253–262.

*Рекомендовано до публікації д-р мед. наук, професор Лановенко І. І.
Дата надходження рукопису 29.05.2018*

Калиниченко Тетяна Олексіївна, кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії, лабораторія кріоконсервування гемопоетичних клітин, Державна установа «Інститут гематології та трансфузіології Національної академії медичних наук України», вул. Максима Берлінського, 12, м. Київ, Україна, 04060

E-mail: kalynychenko_tetiana@ukr.net