

ЕМБРІОНАЛЬНІ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ, ЇХ ПОТЕНЦІАЛ ДО ПРОЛІФЕРАЦІЇ І ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Н. М. Білько, Д. І. Білько, О. О. Бараш

Національний університет "Киево-Могилянська академія", Київ

В останні роки концепція існування гемопоетичних стовбурових клітин зазнала суттєвих змін. Усталене уявлення про єдину гемопоетичну стовбурову клітину та її нащадків ускладнилося накопиченими даними про існування тотипотентної стовбурової клітини та широку гетерогенність відділу клітин-попередників.

Нещодавно у культурі ембріональних клітин у присутності комплексу ростових факторів було отримано цистоподібні утворення, названі "ембріоїдними тільцями" (*Hole, Smith, 1994; Kellier, 1995*). Вони є аналогами жовткового мішка на ранніх етапах розвитку ембріона і утворюються плюрипотентними стовбуровими клітинами. Дані щодо розвитку гемопоетичних клітин з ембріоїдних тілець суперечливі. Невідомо, коли саме виникають перші кровотворні клітини, який шлях диференціювання вони обирають, яка їхня функціональна активність, як впливають ті чи інші комплекси цитокінів на напрям диференціювання та їх інтенсивність.

З метою відповіді на ці запитання було проведено експериментальні дослідження, в яких використовували лінію ембріональних стовбурових клітин мишей D3 для отримання ембріоїдних тілець. Клітини у краплях поміщали на внутрішню поверхню кришки чашки Петрі у концентрації 3×10^4 клітин/мл повного живильного середовища (30-40 крапель на чашку) і культивували у висячому стані протягом 2 діб у присутності *LIF* (100 Од/мл). Отримані ембріоїдні тільця для нарощування маси переносили у мікробіологічні чашки Петрі на 5-7 діб, потім кожне із них поміщали в окрему лунку %-коміркового планшета і культивували 4-5 тижнів у присутності комбінацій ростових факторів. Клітини, отримані із супернатанту, оцінювали у напіврідкому агарі *in vitro* (*Metcalf, Moore, 1973*).

На 1 добу культивування без *LIF* виявляли спонтанне диференціювання у нейрони та кардіоміоцити. Це узгоджується із даними, отриманими у лабораторії А. *Wobus* (1997, 2004). У наших дослідженнях увагу було зосереджено на моменті появи перших кровотворних клітин, оцінці їх функціональної активності і впливу комплексу цитокінів на напрямок диференціювання клітин. Показано, що у процесі культивування клітин ембріоїдного тільця гемопоетичні клітини з'являються спонтанно, на 3-4 добу після видалення *LIF*. Гемопоез підтримується впродовж культивування (5 тижнів). Додавання до середовища ростових факторів призводило до стимуляції кровотворної функції у напрямку гранулоцито- і еритропоезу. Найкращий ефект отримано при використанні *SCF* у поєднанні з ІЛ-6.

Результати проведених досліджень свідчили про те, що культури ембріонічних тілець є адекватною моделлю для вивчення механізмів експансії прогеніторних популяцій кровотворних клітин-попередників. Подальші дослідження регуляції процесів проліферації та диференціювання на початкових етапах формування гемопоетичної системи можуть стати підґрунтям для розробки способів отримання нащадків заданого напрямку диференціювання.