

ВПЛИВ ФАКТОРІВ МІКРООТОЧЕННЯ ОПРОМІНЕНИХ МИШЕЙ BALB/C НА ГЕМОПОЕТИЧНІ КЛІТИНИ-ПОПЕРЕДНИКИ У КУЛЬТУРІ ДИФУЗІЙНИХ КАМЕР *IN VIVO*

І. З. Руссу, Д. І. Білько, Н. М. Білько

Національний університет «Києво-Могилянська академія», Київ, Україна

Гемопоетичні стовбурові клітини кісткового мозку та їхні найближчі нащадки, клітини-попередники, володіють високою радіочутливістю, зокрема, порівняно із більш стійкими мезенхімальними клітинами, що формують кровотворне мікрооточення. Проте серед стромальних клітин також присутні субпопуляції, які значною мірою піддаються дії опромінення, внаслідок чого може змінюватися, зокрема, рівень синтезу регуляторних факторів. Отже, за дії іонізуючої радіації ураження гемопоетичної системи зумовлюється як прямим ушкодженням кровотворних клітин, так і порушеннями у регуляторних функціях строми. Тому важливою є розробка культуральних моделей, які дають змогу оцінити вплив мікрооточення на гемопоез, зокрема, за дії іонізуючої радіації.

Метою дослідження була оцінка впливу факторів, що виділяються гемопоетичним мікрооточенням опромінених мишей Balb/C, при культивуванні гемопоетичних клітин-попередників у дифузійних камерах *in vivo*, за умов гострого і тривалого опромінення мишей у дозі близько 0,2 Гр.

Моделі опромінення тварин було розроблено в Інституті проблем безпеки атомних електростанцій НАН України. Першу групу склали тварини, піддані зовнішньому гострому гамма-опроміненню протягом 4 год у дозі 0,19 Гр через розміщення їх на атестованих джерелах іонізуючої радіації. Другу групу склали миші, яких піддали зовнішньому тривалому опроміненню протягом 6 міс у дозі 0,24 Гр із використанням заздалегідь створених платформ для тривалої експозиції тварин. До контрольної групи входили інтактні тварини відповідного віку, яких утримували у стандартних умовах віварію. Всього було використано 27 мишей Balb/C.

Кістковий мозок для культивування у дифузійних камерах вилучали зі стегнових кісток інтактних мишей Balb/C із дотриманням умов стерильності, після чого оцінювали життєздатність та кількість клітин. На основі повного живильного середовища із додаванням сироватки та антибіотиків готували культуральну суспензію, яку змішували із напіврідким агаром та вносили у дифузійні камери. Мишей-реципієнтів камер із опромінених та контрольної груп оперували із використанням анестезії, вносили камери у їхню черевну порожнину та здійснювали культивування клітин протягом 11 діб.

Культивування гемопоетичних клітин у системі дифузійних камер *in vivo* дало оцінку стану гемопоетичного мікрооточення у кістковому мозку тварин, які зазнали дії іонізуючої радіації. Внаслідок опромінення в організмі тварини-реципієнта виділяється ряд ростових факторів, які впливають на власний гемопоез, та при цьому потрапляють у периферійну кров і здійснюють вплив на клітини у дифузійних камерах. Дослідження ефективності колонієутворення гемопоетичних клітин-попередників у культурі *in vivo* дало змогу виявити суттєві відмінності між групами опромінених тварин та контролем. Зокрема, спостерігалось значне підвищення кількості колонієутворюючих одиниць у групі тварин, яких піддали гострому одноразовому опроміненню ($49,1 \pm 3,3$ КУО на 100 тис. експлантованих клітин) порівняно із контролем, де цей показник становив лише $9,2 \pm 1,9$ КУО. У той же час у групі тварин тривалого опромінення кількість колонієутворюючих одиниць була також підвищена ($30,7 \pm 2,8$ КУО на 100 тис. експлантованих клітин), проте меншою мірою.

Отже, мезенхімальні стромальні клітини кісткового мозку опромінених тварин реагували на вплив іонізуючої радіації виділенням ряду ростових факторів, що здатні стимулювати проліферацію гемопоетичних клітин у дифузійних камерах *in vivo*. Більш суттєвим цей вплив був у групі тварин, яких піддали гострому одноразовому опроміненню у дозі 0,19 Гр, порівняно із групою тривалого опромінення у дозі 0,24 Гр. Це може пояснюватися певною адаптацією організму під час хронічного опромінення низькими дозами, зокрема, відповідними змінами у функціонуванні гемопоетичного мікрооточення за таких умов.

Культуральна система із використанням дифузійних камер *in vivo* дала належну оцінку впливу ростових факторів, які виділяються стромою кісткового мозку в опроміненому організмі, на гемопоетичні стовбурові клітини та клітини-попередники інтактних тварин.