

Мембранна спорідненість гемопоетичних і мультипотентних стромальних клітин як можливий фактор впливу на лінійне диференціювання стромальних клітин



Демченко Д. Л.

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН», Київ, Україна

Показано, що контакт гемопоетичних клітин, які мають високу мембранну спорідненість до мультипотентних стромальних клітин (МСК) тимусу *in vitro* стимулює гемопоез і регенерацію імунної системи (Нікольський І. С. та співавт., 2016). Але не відомо, чи змінюються при мембранному контакті властивості лише гемопоетичних клітин, чи активуючі сигнали можуть проходити і у зворотньому напрямку до МСК. Якщо мембранна взаємодія тимоцитів з МСК потенціює останні до остеогенного диференціювання, як було нами показано раніше, можна припустити, що зміни в процесі лінійного диференціювання визначаються інтенсивністю взаємодії клітин і ефективніший вплив будуть здійснювати лімфоцити з найбільш вираженою спорідненістю до МСК.

Формування клітинних асоціацій у вигляді фібробласто-лімфоцитарних розеток (ФЛР) здійснювали за методом Нікольського І. С. і співавт. (2012). Остеогенне і адипогенне диференціювання МСК тимусу мишей лінії C57BL/6 проводили за стандартним методом у спеціальних культуральних середовищах. В результаті спостерігали ефективне диференціювання МСК тимусу по остео- і адипогенному напрямкам.

Остеогенні і адипогенні клітини, як і неіндуковані МСК тимусу, використовували для постановки ФЛР з сингенними тимоцитами, спленоцитами, клітинами лімфатичних вузлів і ККМ. У всіх комбінаціях спостерігалось формування ФЛР. Значно більш вираженим воно було між тимоцитами і неіндукованими МСК тимусу, а також остеобластами і найменш інтенсивним між ККМ і неіндукованими МСК тимусу, а також адипоцитами; у поєднанні «остеобласти + тимоцити» утворювалась найбільша кількість ФЛР (64,3 %), а при взаємодії «адипоцити + ККМ» – найменша (15,5 %).

Таким чином, отримані дані показали, що саме тимоцити, які потенціують остеогенне диференціювання МСК тимусу, остеобласти і МСК проявляють найбільшу мембранну спорідненість, що підтверджує участь контактної взаємодії клітин у процесах лінійного диференціювання МСК.

Мезенхімальні стовбурові клітини в умовах дії малих доз іонізуючої радіації



Руссу І. З., Родіонова Н. К., Білько Н. М.

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

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Серед стовбурових клітин кісткового мозку людини присутні, зокрема, гемопоетичні та мезенхімальні клітини, що дають початок, відповідно, кровотворним клітинам та стромальним клітинам гемопоетичного мікрооточення. Мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку вважалися доволі радіорезистентними у порівнянні із кровотворними клітинами, проте серед них були виявлені групи клітин, що можуть володіти високою радіочутливістю. Тому метою даного дослідження було вивчення особливостей функціонування мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку щурів при дії іонізуючої радіації в малих дозах (1 Гр) у культурі клітин *in vitro*.

Дослідження функціональної активності мезенхімальних стовбурових клітин, підданих дії іонізуючої радіації, у культурі *in vitro* передбачає оцінку ефективності їх колонієутворення. З цією метою суспензію клітин кісткового мозку опроміненних щурів Wistar із застосуванням живильного середовища DMEM вносили у культуральні флакони та культивували протягом двох тижнів. Крім того, вивчали здатність цих клітин формувати стромальні фідерні шари та підтримувати процес кровотворення у культурі *in vitro*. Для цього використовували гелеві дифузійні камери з кістковим мозком неопроміненних тварин у середовищі RPMI-1640, занурені у лунки культурального планшета із середовищем і заздалегідь приготованим фідерним шаром зі строми опроміненних тварин, та культивували протягом 18 діб із заміною половини культурального середовища кожні 3 доби.

В результаті проведених культуральних досліджень було здійснено оцінку функціональної активності мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку та їх найближчих нащадків – клітин-попередників при дії на них опромінення іонізуючою радіацією у малих дозах. Загальний показник ефективності колонієутворення мезенхімальних клітин на 14-ту добу культивування *in vitro* свідчив про виражений вплив опромінення на ці клітинні елементи мікрооточення. Так, у дослідній групі тварин кількість колонієутворюючих одиниць становила $(3,30 \pm 0,48)$ на 1 млн. експлантованих клітин, тоді як у групі контролю цей показник був у півтора разу вищий і становив $(5,10 \pm 0,74)$ на 1 млн. культивованих клітин.

Також було з'ясовано, що фідерні шари, сформовані опроміненними мезенхімальними клітинами, мають знижену здатність підтримувати процес гемопоезу в культурі *in vitro*. Так, при оцінюванні показників ефективності колонієутворення гемопоетичних клітин-попередників у гелевих дифузійних камерах на фідерних шарах було виявлено зменшення цих показників у порівнянні з контролем – $(9,60 \pm 0,97)$ та $(15,02 \pm 0,84)$ KVO на 10^5 експлантованих клітин, відповідно.

Отже, можна говорити про суттєві зміни функціональної активності мезенхімальних стовбурових клітин та клітин-попередників кісткового мозку в умовах дії на організм лабораторних щурів іонізуючої радіації у зазначеній дозі. Подальші дослідження радіочутливості цих клітин є доцільними у зв'язку з можливістю їх застосування у терапії різноманітних патологічних станів організму людини, у тому числі при лікуванні захворювань системи гемопоезу.