

Гетерогенність гемопоетичних клітин-попередників у культурі клітин *in vitro*



Пахаренко М. В., Сорочинська Х. І., Білько Н. М., Білько Д. І.
Національний університет «Кієво-Могилянська академія», Київ, Україна

Гемопоез – це складний, регульований процес, що включає низку послідовних етапів диференціювання примітивних клітин до стадії зрілості. Контроль гемопоезу зумовлений наявністю величезної кількості факторів мікрооточення, які доповнюють один одного, створюючи сприятливі умови для росту та розвитку клітин крові. Стабільність та збалансованість гемопоетичної системи забезпечується явищем самооновлення, яке полягає у постійній заміні зрілих клітин на більш примітивні у кожному паростку кровотворення [Чертков та співав., 2005; Чайковський та співав., 2014]. Особливої уваги заслуговує питання пошуку джерел гемопоетичних стовбурових клітин, класичним представником яких виступає кістковий мозок [Staal et al., 2011]. Фетальна печінка є одним з перспективних джерел гемопоетичних стовбурових клітин. Вивчення культуральних та цитологічних особливостей фетальної печінки як органа ембріонального кровотворення людини дає змогу отримати результати, які забезпечують вагомий внесок у процес розуміння явища кровотворення та особливостей його регуляції. Саме тому метою роботи було визначення особливостей культуральних та цитологічних характеристик гемопоетичних клітин-попередників з фетальної печінки ембріону людини.

Об'єктом дослідження була криоконсервована суспензія клітин фетальної печінки 7-11-тижневого ембріону людини. Для дослідження фетальної печінки використовували зразки, які були отримані з ембріонів після планового переривання вагітності за соціальними показаннями та при наявності інформованої письмової згоди у термін із 7-го по 11-й тиждень вагітності. Перший етап дослідження полягав у культивуванні суспензії клітин фетальної печінки у середовищі DMEM з напіврідким агаром протягом 10-14 діб. Отримані клітинні агрегати – кластери та колонії – піддавали мікроскопічному дослідженню під інвертованим мікроскопом. На наступному етапі проводили вилучення колоній, їх забарвлення за Паппенгеймом та мікроскопію. Паралельно проводили дослідження первинної та культивованої суспензії клітин фетальної печінки на препаратах, отриманих на цитоцентрифузі «Shandon Cytospin 3» (США), з подальшим їх забарвленням за Паппенгеймом та мікроскопією.

Шляхом культивування у напіврідкому агарі суспензії клітин фетальної печінки людини було отримано гранулоцитарні (КУО-Г), макрофагальні (КУО-М), гранулоцитарно-макрофагальні (КУО-ГМ) та еритроїдні (КУО-Е, БУО-Е) колонії гемопоетичних клітин-попередників. За допомогою морфологічного аналізу препаратів первинної суспензії гемопоетичних клітин фетальної печінки людини було показано значне переважання представників еритроїдного паростку кровотворення – 77 %. У роботі застосовано оригінальний метод фіксації колоній, отриманих з колоній гемопоетичних клітин-попередників фетальної печінки після двотижневого культивування, що дозволило диференціювати колонії за їх походженням.

Закономірності функціонування гемопоетичної стовбурової клітини та клітин-попередників у процесі перебігу хронічної мієлоїдної лейкемії



Білько Н. М., Дяченко М. В., Дягіль І. С., Білько Д. І.
Національний університет «Кієво-Могилянська академія» Київ, Україна

Вивчення механізмів регуляції та підтримання протягом життя макроорганізму його основних властивостей за фізіологічних умов і при розвитку низки патологічних станів залишається однією з ключових проблем клітинної біології (Чертков І. Л. і соавт., 2005; Lin E. N., et al., 2008). Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) є клональним онкологічним захворюванням, яке пов'язують з наявністю Філадельфійської хромосоми та, як наслідок, з утворенням химерного гену *bcr-abl*, продуктом якого є активна тирозиназа *Bcr-Abl*, що відіграє основну роль у патогенезі ХМЛ (Specchia G. et al., 1995, 2005; Глузман Д. Ф., 2008). Дані, отримані за останні роки, все більше дозволяють припускати вирішальну роль не лише гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК), але й клітин-попередників кісткового мозку (КМ) як у виникненні, так і у прогресуванні захворювання. Однак інформації щодо функціональних особливостей гемопоетичних клітин-попередників кісткового мозку у різних фазах захворювання та за умов терапевтичного інгібування тирозинкінази *Bcr-Abl* на сьогодні недостатньо, а отримані дані суперечливі.

Виходячи з вищевикладеного, ми вважали за доцільне провести морфофункціональний аналіз кровотворних клітин-попередників, вилучених із кісткового мозку, в процесі перебігу ХМЛ. Аналіз отриманих результатів свідчив про здатність гемопоетичних клітин-попередників при ХМЛ до колонієутворення клітинних агрегатів у культурі з напіврідким агаром та до підтримання довготривалої суспензійної культури без додавання екзогенних ростових факторів в залежності від відповіді на вплив інгібітора тирозинкінази *Bcr-Abl* (ІТК). Доведено, що показники проліферативного потенціалу та клітинного складу колоній, утворених при культивуванні у напіврідкому агарі, можуть слугувати не лише для оцінки стану кровотворної системи на момент проведення дослідження, але і бути ранніми предикторами прогресування патологічного процесу. Показники морфофункціональних характеристик стовбурових клітин та їх нащадків (зокрема, рівень проліферативного потенціалу стовбурових клітин та клітин-попередників КМ, склад клітинних агрегатів) можуть стати підґрунтям для додаткової оцінки можливості прогресування ХМЛ.