

## АЛЬТЕРНАТИВНІ ДЖЕРЕЛА СТОВБУРОВИХ КЛІТИН З КІСТОК РІЗНОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ

Бутенко Є. С., Пахаренко М. В.

*Національний університет «Києво-Могилянська академія»,  
м. Київ, Україна,  
uapraetorian@gmail.com*

**Вступ.** Основним джерелом гемопоетичних стовбурових клітин в організмі дорослої людини вважається кістковий мозок, отриманий з груднини. Він також розміщений у комірках губчастої речовини плоских і губчастих кісток, епіфізів довгих (трубчастих) кісток; складається з сітки ретикулярних волокон і клітин, в петлях якої знаходяться примітивні, дозріваючі та зрілі гемопоетичні клітини. Доцільність визначення морфологічних і функціональних показників гемопоетичних клітин-попередників з кісткового мозку, вилучених з територіально різних місць їх перебування у кістках людини, зумовлена необхідністю поглиблення знань про особливості їх функціонування, як для вирішення питань регенеративної медицини, так і для прогнозування перебігу онкогематологічних захворювань.

**Мета.** Отже, метою роботи було визначення альтернативних джерел стовбурових клітин для відновлення гемопоезу при трансплантації.

**Матеріали та методи.** Матеріалом для дослідження був кістковий мозок, отриманий у 32 осіб без злоякісних захворювань системи крові. Кістковий мозок видаляли для виявлення злоякісного захворювання крові. Якщо в результаті діагностичної пункції чи вилучення трепанобіоптата визначали відсутність патології, ці зразки розглядалися як біоматеріал для регенеративної медицини. До I-ї групи ввійшли 11 пацієнтів, в яких вилучали кістковий мозок у результаті діагностичної пункції груднини, до II-ї – 8 пацієнтів, у яких виділені фрагменти ребер у результаті торакальної операції, до III-ї – 6 пацієнтів, у яких вилучені трепанобіоптати верхньої передньої клубової ості клубової кістки, складової тазової кістки і до IV-ї – 7 пацієнтів, у яких вилучали кістковий мозок з задньої клубової ості для подальшої діагностики. Усі пацієнти дали усвідомлену згоду використовувати їх матеріал для дослідницьких цілей. Діагностичну пункцію груднини кісткового мозку пацієнтів і трепанобіопсію проводили медичні працівники відділення захворювань системи крові ДУ «Інститут гематології та трансфузіології» НАМН України. Після центрифугування протягом 30 хв з Histopaque-1077 («Sigma-Aldrich», США) тричі відмивали у фосфатно-солевому розчині (PBS). Визначали життєздатність виділених клітин за допомогою забарвлення трипановим-синім і кількість клітин підраховували у камері Горяєва. Повне живильне середовище складалося з середовища RPMI-1640 («Sigma», США), 20 % фетальної телячої сироватки («Sigma», США), ростового фактору GM-SCF та антибіотиків: пеніциліну («Київмедпрепарат», Україна) та стрептоміцину («Київмедпрепарат», Україна) по 100 Од/мл. Для отримання напіврідкого середовища використовували бактоагар («Difco», США) з кінцевою концентрацією після розведення 0,33%. Суспензію клітин у визначених

концентраціях у повному живильному середовищі з напіврідким агаром переносили у чашки Петрі діаметром 35 мл.

**Результати та їх обговорення.** Культивування клітин у культурі з напіврідким агаром здійснювали з кістковомозковими клітинами, вилученими з грудини, ребер, передньої верхньої секції і задньої верхньої секції клубової кістки. Ефективність колонієутворення для стернального пунктату становила  $43,5 \pm 3,3$ , для кісткового мозку з фрагмента ребра –  $42,5 \pm 3,8$ , з передньої верхньої ділянки гребня клубової кістки –  $40,5 \pm 5,3$ , з задньої верхньої ділянки гребня клубової кістки –  $42,3 \pm 6,5$  ( $p > 0,05$ ). Результати свідчили про те, що достовірної різниці між колонієутворюючою здатністю кістковомозкових клітин, отриманих з різних місць їх перебування, не спостерігалось. Визначали проліферативний потенціал, який являє собою співвідношення колоній до кластерів. Не виявлено достовірної різниці між проліферативним потенціалом клітин в культурах, вилучених з різних місць їх розташування у кістковій тканині. Відсутність різниці у співвідношенні колоній і кластерів у пацієнтів з різних груп свідчить про те, що не лише кількість ранніх клітин-попередників кісткового мозку співставна у групах, які порівнюються, а й їхніх більш диференційованих нащадків, котрі мають менший потенціал до диференціювання та в напіврідкому середовищі формують кластери. У роботі було встановлено оптимальні умови культивування кісткового мозку пацієнтів без гематологічної патології у напіврідкому середовищі *in vitro*. Визначений найбільш придатний термін зняття результатів експериментів – 14-та доба культивування. Кількість клітин, що була вибрана, як оптимальна для проведення подальших досліджень, становила  $5 \times 10^5$  клітин в 1 мл, або  $1 \times 10^5$  клітин на одну культуру. Виявилось, що незалежно від місця забору біологічного матеріалу (кісткового мозку) у людини колонієутворення з розрахунку на  $1 \times 10^5$  експлантованих клітин в культурі підтримується на одному рівні, що є важливим для використання стовбурових клітин з різних ділянок кісткової тканини в разі трансплантації. Про це свідчать проліферативний потенціал колонієутворення.

**Висновки.** Таким чином, кістковий мозок з фрагментів ребер, з переднього і заднього гребня клубової кістки поряд з кістковим мозком з грудини пропонуються, як додаткові джерела стовбурових клітин для трансплантацій. Отримані результати зможуть поглибити уявлення про функціонування стовбурових клітин і їх найближчих нащадків в організмі людини.

**Ключові слова.** Гемопоетичні стовбурові клітини, культивування *in vitro*, колонієутворююча здатність.