

Білько Д. І.,¹ Руссу І. З.,¹ Родіонова Н. К.,² Білько Н. М.¹

¹Національний університет «Кієво-Могилянська академія», Київ, Україна

²Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ЩУРІВ Wistar, ОПРОМІНЕНИХ У РІЗНИХ ДОЗАХ, ЗА УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ ЯК ФІДЕРНИХ ШАРІВ

Дія іонізуючої радіації на організм ссавців та на кістковий мозок зокрема супроводжується не лише ушкодженням кровотворних клітин, а й порушеннями у функціонуванні стромальних клітин, що входять до складу мікрооточення та є нащадками мезенхімальних стовбурових клітин. Серед мезенхімальних стромальних клітин виокремлюють субпопуляції із високою радіочутливістю та ті, що характеризуються більшою радіорезистентністю. Наслідки дії іонізуючого випромінювання на кістковий мозок можуть бути визначені завдяки дослідженню функціонування гемопоетичних та стромальних клітин-попередників у культуральних системах *ex vivo*. Однією із таких систем є культура клітин *in vitro*, що передбачає застосування фідерних шарів, отриманих зі стромальних клітин-попередників, як основи для подальшого культивування гемопоетичних клітин, та оцінка їхньої здатності до утворення клітинних агрегатів за даних умов.

Метою роботи було визначення ефективності колонієутворення гемопоетичних клітин-попередників, культивованих із використанням фідерних шарів, що отримані із кісткового мозку опромінених у різних дозах щурів Wistar.

Дослідження проводилося із використанням білих щурів-самців Wistar, яких утримували в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні. Тварин було розподілено на три групи. Першу групу склали здорові інтактні особини (контроль). Друга група тварин була піддана довготривалому внутрішньому опроміненню протягом 6 міс. шляхом додавання їм у їжу розчину хлориду стронцію-90 та на кінець періоду опромінення характеризувалася поглинутою у скелеті дозою в 1 Гр. Третя

група тварин була опромінена у сублетальній дозі (6 Гр) за добу до експерименту. Моделі опромінення були розроблені в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України.

Після закінчення опромінення із досягненням бажаної дози тварин забивали із дотриманням етичних норм та приписів шляхом вміщення у камеру із CO₂. Для подальших досліджень у тварин усіх трьох груп вилучали кістковий мозок зі стегнових кісток за умов стерильності та готували суспензію клітин із використанням середовища DMEM з антибіотиками пеніциліном та стрептоміцином.

Функціональну оцінку мезенхімальних стромальних клітин-попередників кісткового мозку опромінених тварин проводили за здатністю отриманих із них фідерних шарів підтримувати кровотворення у культурі *in vitro*. Для приготування фідерних шарів спершу переносили суспензію клітин у пластикові культуральні планшети. Заміну середовища проводили через 1 добу, таким чином видаляючи неадгезовані клітини. Після цього кожні 72 год. половину обсягу середовища замінювали свіжим. Культивування здійснювали у CO₂-інкубаторі при 5% CO₂, 37 °C і 100 % вологості протягом 10 діб.

Клітини знімали з поверхні пластику розчином трипсину-EDTA, відмивали центрифугуванням у PBS, додавали культуральне середовище та переносили у 6-лункові пластикові планшети у концентрації 100 тис. клітин на лунку. Після утворення моношару клітини обробляли Мітоміцином C для зупинки процесу клітинного поділу. В подальшому отриманий моношар відмивали розчином PBS 5 разів і використовували як фідерний шар.

Для оцінки здатності сформованих стромальних шарів підтримувати гемопоез у культурі *in vitro* використовували інтактні гемопоетичні клітини кісткового мозку неопромінених тварин, які отримували описаним вище чином.

Суспензію гемопоетичних клітин-попередників готували шляхом змішування клітин із середовищем RPMI-1640, що містило 10% фетальної телячої сироватки, 1% L-глутаміну, розчин пеніциліну-стрептоміцину та агар, отримуючи кінцеву його кон-

центрацію 0,33%. Після цього клітини у напіврідкому агарі вносили у дифузійні камери, що дають змогу надходити всередину компонентам живильного середовища та ростовим факторам, які синтезуються стромальними клітинами фідерного шару.

У кожному лунку культурального планшета із фідерним шаром додавали живильне середовище RPMI-1640, у яке занурювали дифузійні камери із гемопоетичними клітинами. Середовище замінювали кожні 72 год. шляхом зміни половини супернатанту свіжим середовищем. Культивування гемопоетичних клітин проводили протягом 18 діб у CO₂-інкубаторі.

Результати культивування кровотворних клітин *in vitro* за умов використання стромальних фідерних шарів свідчили про суттєвий вплив опромінення на функціональну активність мезенхімальних стромальних клітин-попередників кісткового мозку щурів.

Зокрема, у контрольних зразках, де стромальні клітини були неопроміненими (перша група тварин), показник ефективності колонієутворення гемопоетичних клітин становив $16,3 \pm 2,2$ колонієутворюючих одиниць на 100 тис. експлантованих клітин.

Разом з тим, було виявлено знижену ефективність колонієутворення гемопоетичних клітин-попередників кісткового мозку у культуральній системі, де фідерним шаром слугували стромальні клітини, отримані із кісткового мозку тварин, довготривало опромінених стронцієм-90 (друга група). Так, показник колонієутворюючої активності у цій групі становив $9,5 \pm 1,9$ на 100 тис. культивованих клітин, тобто спостерігалось зниження у 1,5 разу здатності стромальних клітин до підтримки кровотворення у культурі. Це може бути наслідком виснаження пулу стовбурових клітин кісткового мозку, мезенхімальних та гемопоетичних, а також їх зниженої здатності до проліферації і нормального диференціювання, за умов довготривалого внутрішнього опромінення тварин. Функціональна активність стромальних клітин, що формували фідерний шар, була пригнічена та не сприяла кровотворенню *ex vivo*, оскільки процеси синтезу ростових факторів в опромінених клітинах були суттєво порушені.

У той же час, у третій групі дослідних культур, де джерелом стромальних клітин слугував кістковий мозок тварин, опромінених у сублетальній дозі, спостерігалось

підвищення колонієутворюючої активності гемопоетичних клітин у порівнянні із контролем. Так, цей показник становив у середньому $26,2 \pm 2,3$ на 100 тис. культивованих клітин. Активізація проліферації та синтезу ростових факторів стромальними клітинами фідерного шару була наслідком опромінення у сублетальній дозі, оскільки мезенхімальні клітини кісткового мозку, що вижили після опромінення та не втратили здатності до поділу, повинні були забезпечити відновлення гемопоезу, тож спостерігалася підвищення їхньої функціональної активності.

Отже, у результаті проведених досліджень було виявлено суттєві зміни у ефективності колонієутворення гемопоетичних клітин-попередників, що культивувалися на стромальних фідерних шарах із кісткового мозку опромінених тварин. Зокрема, внаслідок довготривалої дії внутрішнього опромінення функціональна активність стромальних клітин була пригнічена, тоді як зразу після опромінення у сублетальній дозі спостерігалася активізація процесів їх поділу та синтезу ними ростових факторів, що повинні сприяти відновленню гемопоезу.

УДК 615.849 - 614.7:613

Григор'єва Л.І.

Чорноморський національний університет імені Петра Могили

**УПРАВЛІННЯ РАДІАЦІЙНОЮ ЄМНІСТЮ ПРІСНОВОДНИХ ВОДОЙМ,
ПОВ'ЯЗАНИХ З ТЕХНОЛОГІЧНИМИ ВОДОЙМАМИ ЮУАЕС**

Використовуючи міграційні особливості радіонуклідів у водному середовищі і математичні залежності розподілу радіоактивних речовин у його компонентах, які наведено у попередньому підрозділі, можна на практиці задіяти водоймище у дезактиваційних заходах (контрзаходах), спрямованих на покращення радіаційної ситуації у водній системі регіону. Це необхідно також через те, що в екстремальних ситуаціях наведені вище процеси розподілу радіоактивних речовин у компонентах водоймища можуть змінюватися, а необхідність здійснення у таких умовах дезактиваційних заходів навпаки зростає.