

Индуктивное и радиозащитное действие мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток тимуса

И.С. НИКОЛЬСКИЙ, В.В. НИКОЛЬСКАЯ, Г.М. БУТЕНКО

Институт генетической и регенеративной медицины АМН Украины, г. Киев

Inductive and Radioprotective Effect of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells of Thymus

I.S. NIKOLSKY, V.V. NIKOLSKAYA, G.M. BUTENKO

Institute of Genetic and Regenerative Medicine of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

В экспериментах на летально облученных мышах линии СВА показано, что мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки тимуса (МСКТ) в результате совместной инкубации *in vitro* с криоконсервированными гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК) значительно усиливают радиозащитное действие последних. Обнаружено, что МСКТ обладают выраженным радиозащитным действием в дозах, меньших в 10 раз, чем таковые ГСК.

Для изучения индуктивного влияния МСКТ на поверхность с колониями этих клеток помещали суспензию размороженных ГСК и проводили совместное культивирование клеток в течение 24 часов. Затем легко переходящие в суспензию ГСК отделяли от прилипших МСКТ и вводили внутривенно летально γ -облученным (900 рад) мышам линии СВА в количестве $0,5 \times 10^6$ на следующий после облучения день.

Для изучения возможного радиозащитного действия МСКТ мышей линии СВА отделяли от поверхности с помощью раствора версена и трипсина (1:1) и в количестве $0,05 \times 10^6$ вводили летально γ -облученным мышам линии СВА.

Установлено, что по средней продолжительности жизни и динамике выживаемости в течение 4 месяцев радиозащитным действием обладали ГСК, полученные из всех источников, причем как в сингенной, так и ксеногенной комбинациях, а также МСКТ, вводимые в десятикратно меньшем количестве, чем ГСК. Наиболее эффективны ГСК из эмбриональной печени. Средняя продолжительность жизни в результате введения ГСК из эмбриональной печени, преинкубированных с МСКТ, возрас- тала в 3-5 раз. Методом прямой проточной цитофлуориметрии в костном мозге и лимфоидных образованиях таких мышей выявлено 3–15% CD3⁺- и CD20⁺-клеток, что свидетельствует о формировании у леченных ксеногенными ГСК животных довольно стойкого клеточного химеризма, в процессе формирования которого создаются условия для дифференцировки ГСК и пролиферации их потомков. Возможно, что при создании межклеточных контактов *in vitro* или возникновении таковых *in vivo* вследствие эктопической пересадки МСКТ осуществляется индуктивное влияние указанных клеточных элементов на ГСК по характерному для “ниш” алгоритму.

Можно предположить, что эффект контактно-клеточного индуктивного усиления радиозащитного действия ГСК принципиально отражает существующие кооперативные отношения между различными типами стволовых клеток и в дальнейшем может быть использован в трансплантологии.

In the experiments in lethally irradiated CBA mice it has been shown that multipotent mesenchymal stromal cells of thymus (MSCT) as a result of combined *in vitro* incubation with cryopreserved hemopoietic stem cells (HSCs) significantly increase the radioprotective effect of the latter. It has been found also that the MSCT themselves possess a manifested radioprotective effect in the doses 10 times lower than those for HSCs.

For studying the inductive effect of MSCT on the surface with colonies of these cells the suspension of thawed HSCs was placed and the combined culturing of cells for 24 hrs was performed. Afterwards easily transiting to the suspension HSCs were separated from the adhered MSCT and introduced intravenously to lethally γ -irradiated (900 rad) CBA mice in an amount of 0.5×10^6 to the next after irradiation day.

For studying possible radioprotective effect the MSCT of CBA mice were removed from the surface using versene and trypsin solution (1:1) and in the amount of 0.5×10^6 were injected to γ -irradiated CBA mice.

It has been established that on average life span and survival dynamics during 4 months HSCs obtained from all the sources (both in syngeneic and xenogeneic combinations), as well as MSCT introduced in the 10 fold less amount vs HSCs, have radioprotective effect. The most effective were HSCs from embryonic liver. An average life span as a result of HSCs introduction from embryonic liver, preincubated with MSCT, increased 3–5 times. With direct flow cytometry in bone marrow and lymphoid formations of these mice there were found 3–15% of CD3⁺- and CD20⁺-cells, that testifies to the formation in treated with xenogeneic HSCs animals of quite a stable cell chimerism, during which the conditions for differentiation of HSCs and proliferations of their posterity are created. It is very likely that during either creation of intercellular contacts *in vitro* or appearance of those *in vivo* due to ectopic grafting of MSCT there is performed an inductive effect of the mentioned cell elements on HSCs according to characteristic for “niches” algorithm.

One may suppose that the effect of contact-cell inductive strengthening of radioprotective effect of HSCs principally reflects the existing cooperative relationships between various types of stem cells and further may be used in transplantology.