

УДК: 612.419+576.535+612.014.482

І. З. Руссу¹✉, Н. К. Родіонова², Д. І. Білько¹, Н. М. Білько¹

¹Національний університет «Києво-Могилянська академія», вул. Г. Сковороди, 2, Київ, 04655 Україна

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна

МЕЗЕНХІМАЛЬНІ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ ТА КЛІТИНИ-ПОПЕРЕДНИКИ КІСТКОВОГО МОЗКУ ЩУРІВ В УМОВАХ ХРОНІЧНОЇ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ

При дії іонізуючого випромінювання на кровотворну систему ступінь її ураження визначається не лише радіочутливістю гемопоетичних стовбурових клітин, а й радіаційно-індукованими змінами у функціонуванні мікрооточення, зокрема, мезенхімальних стовбурових клітин як його складових.

Мета роботи: визначити особливості функціонування мезенхімальних стовбурових клітин та клітин-попередників кісткового мозку щурів в умовах довготривалої дії іонізуючої радіації внаслідок інкорпорації ⁹⁰Sr.

Матеріали і методи. Було використано модель внутрішнього опромінення радіонуклідом ⁹⁰Sr щурів Вістар та здійснено культивування *in vitro* мезенхімальних клітин їхнього кісткового мозку. Визначали показники ефективності колонієутворення у культурі *in vitro* та здатність цих клітин формувати фідерний шар і підтримувати кровотворні клітини кісткового мозку щурів у культурі дифузійних камер *in vitro*.

Результати та висновки. З'ясовано, що хронічна дія інкорпорованого радіонукліду ⁹⁰Sr зумовлювала суттєве зменшення у порівнянні з контролем проліферативної активності мезенхімальних стовбурових клітин, а також пригнічення здатності сформованих ними фідерних шарів до довготривалої підтримки процесів гемопоезу *in vitro*.

Отже, мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку та їхні найближчі нащадки – клітини-попередники при дії іонізуючої радіації характеризувались доволі високою радіочутливістю, що проявлялось у суттєвому зниженні внаслідок опромінення їхньої функціональної активності у культурі *in vitro* порівняно з контролем.

Ключові слова: мезенхімальні клітини, кістковий мозок, стовбурові та клітини-попередники, іонізуюча радіація, стронцій-90, культура клітин *in vitro*.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2017. Вип. 22. С. 224–230.

✉ Руссу Ірина Зіновіївна, e-mail: borbulyak@yahoo.com

I. Z. Russu¹✉, N. K. Rodionova², D. I. Bilko¹, N. M. Bilko¹

¹National University «Kyiv-Mohyla Academy», Skovorody Str., 2, Kyiv, 04655 Ukraine

²Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology NAS of Ukraine, Vasylkivska Str., 45, Kyiv, 03022 Ukraine

Mesenchymal stem and progenitor cells of rats' bone marrow under chronic action of ionizing radiation

Under the influence of ionizing radiation on hematopoietic system, the level of its injury is determined not only by the radiosensitivity of hematopoietic stem cells, but also by radiation-induced changes in microenvironment functioning, in particular, mesenchymal stem cells as its components.

Objective: to define functioning characteristics of mesenchymal stem and progenitor cells of rats' bone marrow under prolonged action of ionizing radiation as a result of ⁹⁰Sr incorporation.

Materials and methods. We applied the model of Wistar rats' internal irradiation with ⁹⁰Sr radionuclide and performed the *in vitro* cultivation of their bone marrow mesenchymal cells. Colony-forming efficiency in the *in vitro* cell culture was determined, as well as the possibility of these cells to form feeder layers and to support rat bone marrow hematopoietic cells in the culture of diffusion chambers *in vitro*.

Results and conclusions. We established that chronic action of incorporated ⁹⁰Sr radionuclide induced considerable decrease in proliferative activity of mesenchymal stem cells comparing to control, as well as the inhibition of the capability to prolonged support of hematopoietic processes *in vitro* by their feeder layers.

Thus, bone marrow mesenchymal stem cells and their closest progeny – progenitor cells were characterized by rather high radiosensitivity under the influence of ionizing radiation, which was revealed in considerable decline of their functional activity in cell culture *in vitro* comparing to control indices as a result of irradiation.

Key words: mesenchymal cells, bone marrow, stem and progenitor cells, ionizing radiation, Strontium-90, cell culture *in vitro*.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2017;22:224–230.

ВСТУП

Одними з найважливіших елементів кровотворного мікрооточення є мезенхімальні стовбурові клітини та їх похідні – остеобласти, остеоцити, адипоцити, а також адвентиційні, ретикулярні клітини і ендотеліоцити. Відомо, що при дії іонізуючого випромінювання на кровотворну систему ступінь її ураження визначається не лише ступенем радіочутливості гемопоетичних стовбурових клітин, а й радіаційно-індукованими змінами у функціонуванні мікрооточення [1].

Мезенхімальні стовбурові клітини зазвичай вважаються доволі радіорезистентними, принаймні порівняно з гемопоетичними стовбуровими клітинами [2, 3]. Ряд факторів, у тому числі гіпоксія, здатні підвищувати резистентність мезенхімальних клітин при дії іонізуючої радіації [4]. Проте відомо, що серед них є субпопуляції з високою радіочутливістю, що зрештою зумовлює ушкодження гемопоетичного мікрооточення при дії іонізуючого випромінювання на кістковий мозок [5]. Зокрема, було виявлено, що при значному радіаційному ураженні всього організму ушкоджується також і гемопоетичне мікро-

INTRODUCTION

One of the most important elements of hematopoietic microenvironment are mesenchymal stem cells and their derivatives, those are osteoblasts, osteocytes, adipocytes, as well as adventitial cells, reticular cells, and endotheliocytes. It is known that under the influence of ionizing radiation on hematopoietic system, the level of its injury is determined not only by the level of hematopoietic stem cells radiosensitivity, but also by radiation-induced changes in microenvironment functioning [1].

Mesenchymal stem cells are usually considered to be rather radioresistant, at least comparing to hematopoietic stem cells [2, 3]. Several factors including hypoxia are able to enhance the resistance of mesenchymal cells under ionizing radiation action [4]. However, it is known that there are subpopulations with high radiosensitivity, which consequently cause the damage of hematopoietic microenvironment in case of ionizing radiation action on the bone marrow [5]. For instance, it was defined that after major radiation affection of the whole organism the hematopoietic microenviron-

оточення, внаслідок чого може бути неефективною трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин [6]. Тому доцільним було дослідити вплив іонізуючої радіації внаслідок інкорпорації ^{90}Sr на функціонування мезенхімальних стовбурових клітин та клітин-попередників у культурі *in vitro*.

Раніше нами була проведена оцінка функціонування гемопоетичних стовбурових клітин лабораторних тварин за умов дії ^{90}Sr , а також стан кровотворного мікрооточення опромінених щурів і особливості процесу гемопоезу внаслідок змін у регуляторних впливах ушкодженої строми [7, 8]. Дана робота присвячена вивченню функціональної активності мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку щурів в умовах дії іонізуючої радіації.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Метою роботи було визначити функціональну активність мезенхімальних стовбурових клітин та їхніх найближчих нащадків – клітин-попередників кісткового мозку щурів як складових кровотворного мікрооточення в умовах довготривалої дії іонізуючої радіації внаслідок інкорпорації в організмі тварин ^{90}Sr .

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження були проведені з використанням щурів-самців Вістар. Експериментальним тваринам щоденно вводили розчин хлориду ^{90}Sr з метою досягнення поглинутої у скелеті дози у розмірі 1 Гр до кінця періоду введення радіонукліду. Всі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог біоетики.

Для цих досліджень було використано десять щурів Вістар, опромінених ^{90}Sr , і таку ж кількість контрольних тварин. Кістковий мозок стегнових кісток кожної тварини слугував джерелом для постановки п'яти культур клітин *in vitro* у пластикових культуральних матрацах для визначення показника КУОф, а також для отримання фідерного шару у шестишунковому культуральному планшеті. Обчислювали середнє значення показників колонієутворення з усіх культур та стандартне відхилення. Достовірність відмінностей між середніми значеннями експериментальної та контрольної груп визначали за допомогою *t*-критерію Стюдента (рівень значущості $p < 0,05$).

Для оцінки функціональної активності мезенхімальних клітин-попередників кісткового мозку опромінених щурів проводили визначення ефективності їх колонієутворення шляхом двотижневого культивування у культуральній системі *in vitro*. Крім того, було використано модель із гелевими ди-

ment was also injured, which resulted in the inefficiency of hematopoietic stem cells transplantation [6]. Hence, it was appropriate to investigate the influence of ionizing radiation due to ^{90}Sr incorporation on mesenchymal stem and progenitor cells functioning in cell culture *in vitro*.

Previously we have performed the assessment of hematopoietic stem cells functioning under ^{90}Sr action on the laboratory animals, as well as the state of hematopoietic microenvironment of irradiated rats and characteristics of hematopoietic process as a result of alterations in regulatory influence of damaged stroma [7, 8]. Current work is dedicated to the investigation of mesenchymal stem cells functional activity obtained from the bone marrow of the rats under ionizing radiation action.

OBJECTIVE

The aim of investigation was to determine the functional activity of mesenchymal stem cells and their closest progeny – progenitor cells of rats' bone marrow as the components of hematopoietic microenvironment under prolonged action of ionizing radiation as a result of ^{90}Sr incorporation in animals' organism.

MATERIALS AND METHODS

Investigations were performed using Wistar male rats. Experimental animals obtained ^{90}Sr chloride solution daily to reach internal absorbed dose of 1 Gy in the skeleton till the end of administration period. All the manipulations with animals were led according to bioethics principles.

For these investigations we used ten Wistar rats irradiated with ^{90}Sr and the same number of control animals. Bone marrow of the femoral bones of each animal was the source for five cell cultures *in vitro* in plastic cultural flasks for CFU-f determination, as well as for feeder layer obtaining in 6-well cultural plate. We assessed the mean value of colony-forming indices from all the cultures and their standard deviation. Certainty of differences between the mean values of experimental and control groups was determined using Student's *t*-test (significance level $p < 0.05$).

To investigate functional activity of bone marrow mesenchymal progenitor cells of the irradiated rats we determined their colony-forming efficiency by means of two-week cultivation in the cell culture *in vitro*. Apart from that, the model with gel diffusion chambers was applied

фузійними камерами та підтримуючими фідерними шарами для дослідження здатності мезенхімальних клітин забезпечувати функціонування *in vitro* кровотворних клітин-попередників кісткового мозку за рахунок синтезованих ними ростових факторів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Внаслідок проведених досліджень було здійснено оцінку функціональної активності мезенхімальних стовбурових клітин і клітин-попередників, як складових кровотворного мікрооточення та визначено вплив на них опромінення інкорпорованим ^{90}Sr .

Для цього застосовували культивування кістково-мозкових мезенхімальних клітин-попередників опромінених тварин у системі *in vitro* з подальшою оцінкою кількості утворених колоній. Відомо, що мезенхімальні клітини кісткового мозку, на відміну від кровотворних, при культивуванні *in vitro* здатні адгезувати до поверхні культурального пластика, проліферують і згодом утворюють скупчення веретеноподібних клітин-фіброblastів, кожне з яких є нащадком однієї стовбурової клітини.

За колонію приймали клітинні агрегати з 50 і більше фіброblastоподібних клітин (рис. 1). Ефективність колонієутворення мезенхімальних стовбурових клітин визначають за кількістю отриманих до 14-ї доби культивування колонієутворюючих одиниць-фіброblastів (КУОф) на 1 млн культивованих кістковомозкових клітин.

При дослідженні динаміки утворення клітинних агрегатів у культурі було виявлено затримку колонієут-

using supporting feeder layers to determine the capability of mesenchymal cells to provide *in vitro* functioning of bone marrow hematopoietic progenitor cells due to synthesized growth factors.

RESULTS AND DISCUSSION

Performed investigations have allowed assessing the functional activity of mesenchymal stem and progenitor cells as hematopoietic microenvironment components, and determining the influence of incorporated ^{90}Sr irradiation.

We applied cultivation of bone marrow mesenchymal progenitor cells of irradiated animals in cultural system *in vitro* with further assessment of obtained colonies number. It is known, that mesenchymal cells of bone marrow, unlike hematopoietic cells, are capable to adhere to the surface of cultural plastic during *in vitro* cultivation, to proliferate and later to form the clusters of spin-like fibroblast cells, each one being the progeny of one stem cell.

As colonies we accepted cell aggregates consisting of 50 and more fibroblast-like cells (Fig. 1). Colony-forming efficiency of mesenchymal stem cells was determined by the number of fibroblast colony-forming units (CFU-f) obtained till the 14th day of cultivation per 1 million cultivated bone marrow cells.

While investigating the dynamics of cell aggregates appearance in culture we revealed the delay in colony

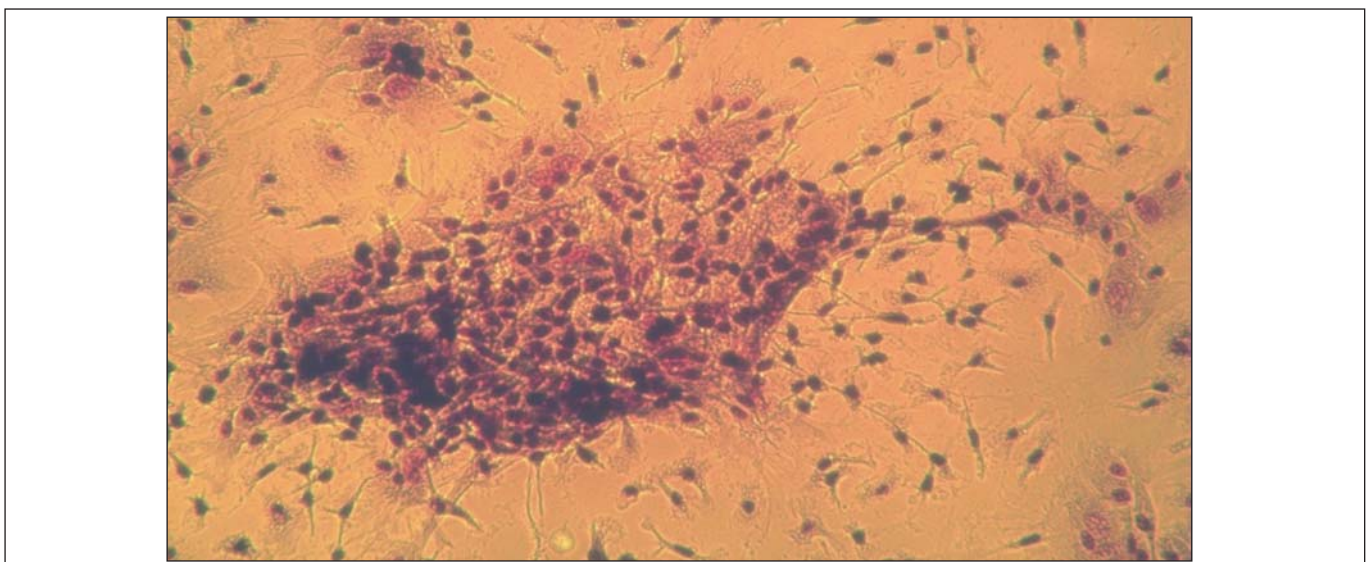


Рисунок 1. Колонія мезенхімальних клітин-попередників кісткового мозку щурів (КУОф) у культурі клітин *in vitro* на 14-ту добу культивування. Забарвлення за Романовським-Гімза. 36. x 200.

Figure 1. Colony of mesenchymal progenitor cells of the rats' bone marrow (CFU-f) in cell culture *in vitro* on the 14th day of cultivation. Romanovsky-Giemsa staining, x 200.

ворення мезенхімальних клітин-попередників кісткового мозку внаслідок дії іонізуючої радіації. Так, поява перших клітинних скупчень у культурі клітин опромінених тварин спостерігалася лише на 4-ту добу культивування, тоді як у контрольних культурах це відбувалося вдвічі швидше; на 2-гу добу культивування уже виявляли невеликі групи веретеноподібних клітин, прикріплених до культурального пластика.

Результати, отримані при підрахунку кількості КУОф у процесі культивування мезенхімальних клітин-попередників кісткового мозку опромінених щурів та тварин групи контролю, представлені на рис. 2. Суттєві відмінності у кількостях КУОф між двома дослідними групами з'являлись вже на другому тижні культивування *in vitro*. Так, показник колонієутворення мезенхімальних клітин-попередників контрольної групи на 8-му добу становив $(3,30 \pm 0,48)$, а при опроміненні – $(2,30 \pm 0,48)$ КУОф. На 11-ту добу культивування ці значення для експериментальної та контрольної груп дорівнювали $(2,90 \pm 0,32)$ та $(4,40 \pm 0,52)$, відповідно.

Загальний показник ефективності колонієутворення мезенхімальних стовбурових клітин, який у підсумку визначався на 14-ту добу культивування *in vitro*, свідчив про виражений вплив іонізуючого випромінювання на ці клітинні елементи мікрооточення і вказував на їх радіочутливість. Так, у групі тварин, підданих хронічному впливу інкорпорованого ^{90}Sr , кількість КУОф на 14-ту добу становила $(3,30 \pm 0,48)$ на 1 млн експлантованих клітин, тоді як у групі контролю цей показник був у півтора раза вищий і

forming by mesenchymal progenitor cells of the bone marrow as a result of ionizing radiation action. Thus, emerging of the first cell conglomerates in the cell culture of irradiated animals was observed only on the 4th day of cultivation, whereas in control cultures it happened twice as fast; on the 2nd day of cultivation we have already visualized small groups of spin-like cells, attached to cultural flask.

The results obtained upon assessing the CFU-f number in the process of mesenchymal progenitors cultivation from the bone marrow of irradiated and control animals are shown on Fig. 2. Distinct differences in CFU-f numbers between the investigated groups appeared on the 2nd week of cultivation *in vitro*. Thus, colony-forming indices of mesenchymal progenitor cells from control group on the 8th day were (3.30 ± 0.48) , and under irradiation – (2.30 ± 0.48) CFU-f. On the 11th day of cultivation these values for experimental and control groups equaled to (2.90 ± 0.32) and (4.40 ± 0.52) , respectively.

General indices of colony-forming efficiency for mesenchymal stem cells, which finally were determined on the 14th day of cultivation *in vitro*, have shown considerable influence of ionizing radiation on these cell components of microenvironment and pointed out their radiosensitivity. Thus, in the group of animals chronically influenced by incorporated ^{90}Sr the CFU-f number on the 14th day was (3.30 ± 0.48) per 1 million cells explanted, while in control group this index was 1.5 times

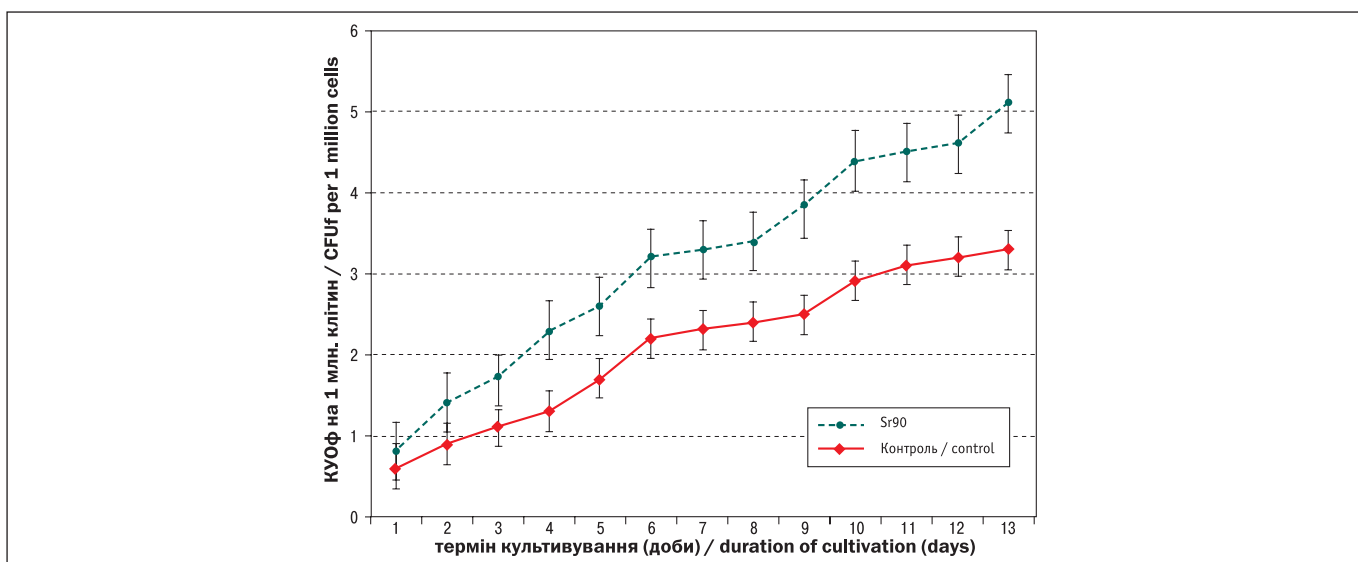


Рисунок 2. Динаміка колонієутворення у культурі *in vitro* мезенхімальних клітин-попередників кісткового мозку опромінених ^{90}Sr щурів.

Figure 2. Dynamics of colony forming by mesenchymal progenitor cells of the bone marrow of rats irradiated by ^{90}Sr in cell culture *in vitro*.

становив $(5,10 \pm 0,74)$ КУОф на 1 млн культивованих клітин. Статистична обробка отриманих результатів свідчила про наявність задовільної достовірності у різниці між досліджуваними групами після двох тижнів культивування.

Подальшим етапом досліджень була оцінка функціонального стану мезенхімальних клітин-попередників кісткового мозку опромінених тварин, а саме, їх здатності сформувати фідерний шар у культурі *in vitro* та за рахунок синтезованих ним ростових факторів регулювати процес кровотворення у культурі *in vitro*. Для цього на отриманий фідер поміщали гелеві дифузійні камери з гемопоетичними клітинами-попередниками і додавали відповідне культуральне середовище. Культивували клітини протягом 14 діб та оцінювали показники ефективності їх колонієутворення. Контролем слугували показники колонієутворення гемопоетичних клітин-попередників тварин групи контролю, при цьому фідерний шар був сформований мезенхімальними клітинами кісткового мозку тварин цієї ж групи.

Зазначена модель культивування клітин дозволила виявити зміни у функціональній активності мезенхімальних клітин-попередників у результаті дії іонізуючої радіації. Зокрема, було з'ясовано, що фідерні шари, сформовані клітинами опромінених тварин, характеризуються зниженою здатністю до підтримки належного функціонування кровотворних клітин у порівнянні з контролем.

Отримані фідерні шари з мезенхімальних клітин повинні продукувати гемопоетичні ростові фактори, проте їх можливості забезпечувати процес гемопоезу у культурі були пригніченими внаслідок дії іонізуючого випромінювання. Так, при оцінюванні показників ефективності колонієутворення гемопоетичних клітин-попередників у гелевих дифузійних камерах на фідерних шарах було виявлено їх зниження у 1,5 раза в порівнянні з контролем – $(9,60 \pm 0,97)$ та $(15,02 \pm 0,84)$ КУО на 10^5 експлантованих клітин, відповідно. Різниця між порівнюваними групами статистично вірогідна ($p < 0,05$).

Отже, можна говорити про суттєве порушення процесів функціонування мезенхімальних стовбурових клітин та клітин-попередників при дії на кістковий мозок лабораторних тварин іонізуючої радіації у вищезазначеній дозі внаслідок інкорпорації радіонукліду ^{90}Sr .

ВИСНОВКИ

Оскільки порушення у системі кровотворення внаслідок опромінення можуть суттєво залежати від стану мезенхімальних стовбурових клітин та їхніх нащадків – клітин-попередників як ключових елементів гемопое-

higher and equaled to (5.10 ± 0.74) CFU-f per 1 million cultivated cells. Statistical analysis of obtained results indicated the presence of acceptable certainty in the differences between investigated groups after two weeks of cultivation.

Further step of research was to assess the functional state of mesenchymal progenitor cells of the bone marrow of irradiated animals, namely their capability to form the feeder layer in culture and to regulate the hematopoietic process *in vitro* due to the synthesis of growth factors. For that we placed gel diffusion chambers with hematopoietic progenitor cells on the obtained feeder layers and added sufficient cultural media. Cells were cultivated during 14th days and then their colony-forming efficiency was evaluated. As control we used CFU number of hematopoietic progenitor cells of control animals, when feeder layer was formed by bone marrow mesenchymal cells of the same group of animals.

Indicated model of cell cultivation has allowed determining the alterations in functional activity of mesenchymal progenitor cells as a result of ionizing radiation action. In particular, we found out that feeder layers formed by the cells of irradiated animals are characterized by decreased ability to provide proper functioning of hematopoietic cells comparing to control.

Obtained feeder layers of mesenchymal cells are to produce the hematopoietic growth factors, but their possibility to support hematopoiesis in culture was inhibited due to impact of ionizing radiation. Thus, while assessing colony-forming efficiency indices of hematopoietic progenitor cells in gel diffusion chambers on feeder layers we revealed a 1.5 time decrease comparing to control – (9.60 ± 0.97) and (15.02 ± 0.84) CFU per 10^5 explanted cells, respectively. The difference between compared groups is statistically certain ($p < 0.05$).

Consequently, we can assume that there are considerable distortions of mesenchymal stem and progenitor cells functioning under ionizing radiation action on the bone marrow of animals in the indicated dose as a result of radionuclide ^{90}Sr incorporation.

CONCLUSIONS

Whereas the distortion in hematopoietic system as a consequence of irradiation can significantly depend on the state of mesenchymal stem cells and their progenitor cells as key elements of

тичного мікрооточення, було проведено дослідження функціональної активності мезенхімальних клітин-попередників, одним із проявів якої є їх здатність до підтримки кровотворення у культурі *in vitro* за рахунок синтезованих ними ростових факторів.

У результаті проведених досліджень виявилось, що мезенхімальні клітини-попередники кісткового мозку внаслідок хронічної дії іонізуючої радіації втрачають можливість належним чином підтримувати гемопоез *in vitro*, що відображається на колонієутворюючій активності гемопоетичних клітин-попередників, які були занурені в дифузійних камерах у живильне середовище з опроміненим фідерним шаром.

Це свідчить про вищу, ніж зазвичай вважалося, радіочутливість мезенхімальних стовбурових клітин та клітин-попередників кісткового мозку, що може мати значення при розробці стратегій радіотерапії онкогематологічних захворювань та дослідженні ролі мікрооточення для успішної трансплантації гемопоетичних клітин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Alessio N., Del Gaudio S., Capasso S., Di Bernardo G., Cappabianca S., Cipollaro M., Peluso G., Galderisi U. Low dose radiation induced senescence of human mesenchymal stromal cells and impaired the autophagy process. *Oncotarget*. 2015. Vol. 6, no. 10. P. 8155-8166.
2. Chen M. F., Lin C. T., Chen W. C., Yang C. T., Chen C. C., Liao S. K., Liu J. M., Lu CH, Lee K. D. The sensitivity of human mesenchymal stem cells to ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2006 Vol. 66, no. 1. P. 244-253.
3. Singh S., Kloss F. R., Brunauer R., Schimke M., Jamnig A., Greiderer-Kleinlercher B., et al. Mesenchymal stem cells show radioresistance *in vivo*. *J. Cell Mol. Med.* 2012. Vol. 16, no. 4. P. 877-887.
4. Sugrue T., Lowndes N. F., Ceredig R. Hypoxia enhances the radioresistance of mouse mesenchymal stromal cells. *Stem Cells*. 2014. Vol. 32, no. 8. P. 2188-2200.
5. Nicolay N. H., Sommer E., Perez R. L., Wirkner U., Bostel T., Ho A. D., et al. Mesenchymal stem cells are sensitive to treatment with kinase inhibitors and ionizing radiation. *Strahlenther. Onkol.* 2014. Vol. 190, no. 11. P. 1037-1045.
6. Smith J. N., Calvi L. M. Regulatory interactions in the bone marrow microenvironment. *IBMS Bone Key*. 2011. Vol. 8, no. 2. P. 96-111.
7. Борбуляк І. З., Родіонова Н. К., Білько Н. М. Комплексна оцінка стану гемопоетичної системи лабораторних тварин в умовах внутрішнього опромінення стронцієм-90. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2012. Вип. 17. С. 359-363.
8. Руссу І. З., Родіонова Н. К., Білько Д. І., Білько Н. М. Закономірності змін кількісних і якісних показників гемопоетичних стовбурових клітин у культурі клітин в умовах дії радіонукліду стронцію-90. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2015. Вип. 20. С. 533-542.

hematopoietic microenvironment, we performed the investigation of their functional activity; one its expression is their capability to support hematopoiesis *in vitro* through synthesized growth factors.

As a result of our research it was determined that bone marrow mesenchymal progenitor cells due to chronic action of ionizing radiation have lost their ability to proper support of hematopoiesis *in vitro*, which is respectively revealed in colony-forming activity of hematopoietic progenitor cells inserted in diffusion chambers in cultural medium with irradiated feeder layer.

This indicates higher radiosensitivity of mesenchymal stem and progenitor cells of bone marrow than it was previously described, which can be important for the development of radiotherapy strategies for hematological malignancies, as well as for the investigation of microenvironment role in the process of successful transplantation of hematopoietic cells.

REFERENCES

1. Alessio N, Del Gaudio S, Capasso S, Di Bernardo G, Cappabianca S, Cipollaro M, Peluso G, Galderisi U. Low dose radiation induced senescence of human mesenchymal stromal cells and impaired the autophagy process. *Oncotarget*. 2015;6(10): 8155-66.
2. Chen M., Lin CT, Chen WC, Yang CT, Chen CC, Liao SK, Liu JM, Lu CH, Lee KD. The sensitivity of human mesenchymal stem cells to ionizing radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006;66(1):244-53.
3. Singh S, Kloss FR, Brunauer R, Schimke M, Jamnig A, Greiderer-Kleinlercher B, et al. Mesenchymal stem cells show radioresistance *in vivo*. *J Cell Mol Med*. 2012;16(4):877-87.
4. Sugrue T, Lowndes NF, Ceredig R. Hypoxia enhances the radioresistance of mouse mesenchymal stromal cells. *Stem Cells*. 2014;32(8):2188-200.
5. Nicolay NH, Sommer E, Perez RL, Wirkner U, Bostel T, Ho AD, et al. Mesenchymal stem cells are sensitive to treatment with kinase inhibitors and ionizing radiation. *Strahlenther Onkol*. 2014;190(11):1037-45.
6. Smith JN, Calvi LM. Regulatory interactions in the bone marrow microenvironment. *IBMS Bone Key*. 2011;8(2):96-111.
7. Borbulyak IZ, Rodionova NK, Bilko NM. [Complex assessment of hematopoietic system state of laboratory animals under internal Strontium-90 irradiation]. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2012;(17):359-63. Ukrainian.
8. Russu IZ, Rodionova NK, Bilko DI, Bilko NM. Pattern changes in quantitative and qualitative markers of hematopoietic stem cells during acute and chronic exposure to ⁹⁰Sr isotope in cell culture. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2015;(20):533-42.