

Синтез 2'-5'-олігоаденілатів та їхній вплив на проліферацію і міграцію стовбурових клітин кісткового мозку мишей *in vitro* та *in vivo*

З. Ю. Ткачук, І. Я. Дубей, Т. Г. Яковенко, Л. І. Семерникова,
С. О. Шаповал, В. С. Артеменко, Л. В. Дубей

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

ztkachuk@bigmir.net

*Фосфотрифірним методом у розчині синтезовано 2'-5'-триаденілат та його 3'-епоксианалог. Встановлено, що ці препарати стимулюють міграцію стовбурових клітин кісткового мозку мишей-донорів та їхнє включення у селезінку мишей-реципієнтів при сингенній трансплантації *in vivo*. 2'-5'-Олігоаденілати та їхні похідні залежно від препарату і його концентрації впливають на апоптоз і проліферацію клітин кісткового мозку мишей *in vitro*.*

Ключові слова: 2'-5'-олігоаденілати, аналоги олігонуклеотидів, міграція, стовбурові клітини, проліферація, апоптоз.

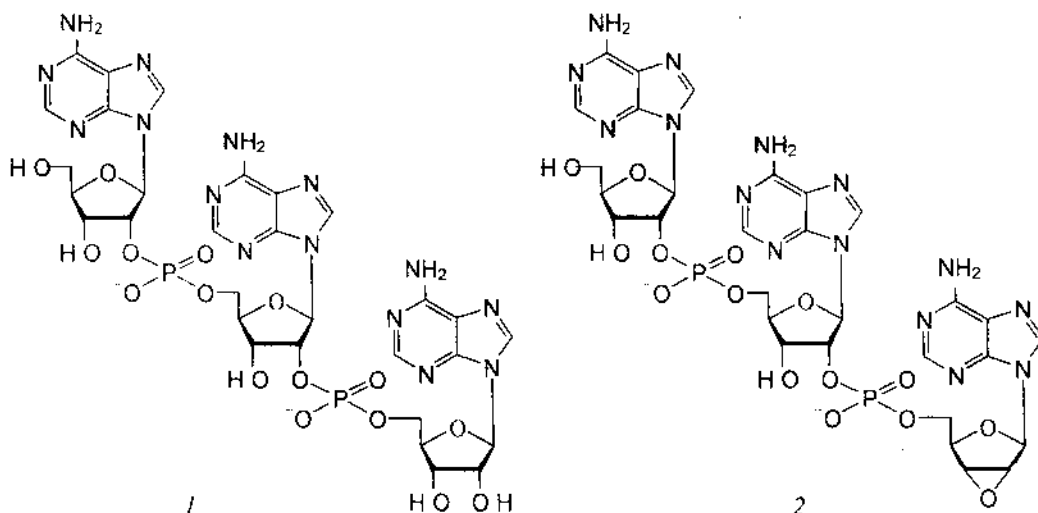
Вступ. У наш час все більшу увагу приділяють вивченню гематогенних стовбурових клітин, що мають високу проліферативну активність і знаходяться в субендостальній області кісткового мозку. Значна їхня кількість належить до класу поліпотентних клітин. Більшість стовбурових клітин перебуває в G₁ фазі клітинного циклу і має потенційну здатність до проліферації за наявності відповідних умов мікрооточення [1]. Велике практичне значення мають гемопоетичні стовбурові клітини в медицині при лікуванні злоякісних новоутворень і хвороб крові [2]. Кістковомозкові клітини, введені опроміненим мишам у невеликій кількості, потрапляють у різні кровотворні органи, зокрема в селезінку. Проліферація введених кровотворних клітин у ній призводить до утворення колоній кровотворення, дискретно розташованих по всій селезінці у вигляді макроскопічних вузликів, які через 7—10 днів після трансплантації вміщують до

кількох мільйонів кровотворних клітин [3]. Раніше було показано стимулювальну дію деяких лікарських препаратів на проліферацію кістковомозкових стовбурових клітин мишей [4].

Після відкриття ролі стовбурових клітин у гомеостазі організму розпочалося інтенсивніше вивчення препаратів, які стимулюють проліферацію стовбурових клітин в субендостальній області кісткового мозку. Майже всі стовбурові клітини кісткового мозку за сприятливих умов потенційно здатні до проліферації [5].

Лікарські препарати, що сприяють міграції стовбурових клітин кісткового мозку в кров'яне русло, розробляють японські вчені. Ними виявлено, що симпатична нервова система може регулювати поділ стовбурових клітин, і запропоновано ліки, які, стимулюючи роботу симпатичної нервової системи, відновлюють і мобілізують міграцію власних стовбурових клітин організму [6].

У роботі [7] вивчено ефективність та безпеку лікування інсульту гранулоцитарним колонієстимулювальним фактором (G-CSF), який мобілізує



Структура аденілатів

стовбурові клітини та проявляє протизапальну і нейропротекторну дію. Клінічними випробуваннями показано, що використання G-CSF у гострій фазі ішемічного інсульту безпечно і значно покращує стан пацієнтів.

Відомо, що 2'-5'-олігоаденілати (2-5A) відіграють ключову роль у механізмі противірусної дії інтерферону, в процесах клітинного росту і диференціації, патогенезі діабету і атеросклерозу, апоптозі та ін. [8].

При захворюваннях, пов'язаних з цитопенією органів і тканин, виникає дефіцит стовбурових клітин кісткового мозку. Це насамперед стосується онкологічних хворих під час хіміотерапії, пацієнтів після тривалого лікування антибіотиками, хворих з затяжними хронічними запаленнями та імунологічними розладами. В усіх цих випадках спостерігається тривале пригнічення поділу стовбурових клітин кісткового мозку [9]. Велика потреба у збільшенні міграції стовбурових клітин кісткового мозку виникає при інфарктах, інсультах, артритях і т. д.

На жаль, природні аденілати (1, рисунок) досить швидко розпадаються в клітині під дією фосфодієстераз. Аналоги 2-5A часто мають підвищену біологічну активність. Одержано велику кількість аналогів 2'-5'-олігоаденілатів, модифікованих по цукрових залишках, міжнуклеотидних фосфатах та гетероциклічних основах. Раніше встановлено, що аналог 2'-5'-триаденілату 2 (рисунок), що містить залишок епоксиденозину на 3'-кінці (епокси-2-5A), є ефективним інгібітором відторгнення тканин після пересадки [10] та має кардіпротекторні властивості [11].

Метою цієї роботи було дослідити вплив синтезованих препаратів 2'-5'-олігоаденілату та їхніх аналогів на збагачення крові стовбуровими клітинами. Ми припустили, що запропоновані препарати впливають на проліферацію *in vitro* та міграцію *in vivo* при сингенній трансплантації і тим самим допомагають організму покривати дефіцит стовбурових клітин.

Матеріали і методи. Хімічний синтез *олігоаденілатів*. У синтезі тримерів використано аденозин, 4,4'-диметокситритилхлорид (DMTrCl), 2-хлорфенілдіхлорфосфат, триізопропілбензолсульфохлорид (TPSCl) («Aldrich», Німеччина) та реактиви і розчинники вітчизняного виробництва. Ацетонітрил переганяли над P_2O_5 і гідридом кальцію, піридин сушили перегонкою над NaOH, нінгідрином і гідридом кальцію. УФ-спектри записували на спектрофотометрі Specord UV-Vis («Karl Zeiss Jena», Німеччина). Тонкошарову хроматографію проводили на пластинках Silicagel 60F₂₅₄ («Merck», Німеччина) в системах хлороформ:метанол, 9:1 (А) та ізопропанол:конц. NH_3 :вода, 5:1:2 (Б).

6-N,3'-O-добензоіл-5'-O-диметокситритил-аденозин-2'-O-(2-хлорфеніл)фосфат 3 (схема) одержували з 6-N,3'-O-добензоіл-5'-O-диметокситритиладенозину [12] стандартним методом фосфорилування [13].

6-N-Бензоіл-9-(2,3-ангідро-β-D-рибофуранозил)аденін 4 (схема) синтезували селективним бензоїлюванням 2',3'-ангідроденозину [14], як описано в [10].

Аденіліл-(2'-5')-аденіліл-(2'-5')-(2',3'-ангідро-

аденозин) 2. Нуклеотидний компонент 3 (1,34 г, 1,25 ммоль), нуклеозидний компонент 4 (353 мг, 1 ммоль) та N-метилімідазол (750 мкл, 9,4 ммоль) упарювали з абсолютним піридином (2×10 мл), потім розчиняли в 10 мл абсолютного піридину і додавали TPSCl (948 мг, 3,13 ммоль). Через 10 хв реакційну суміш розбавляли 50 мл хлороформу та промивали водним розчином бікарбонату натрію (2×30 мл) і водою (30 мл), органічний шар висушували над безводним Na_2SO_4 і упарювали у вакуумі. Надлишок піридину видаляли упарюванням залишку з толуолом (2×10 мл). Повністю захищений динуклеотид 5a (схема) виділяли хроматографією на силікагелі в градієнті концентрації (0—3 %) метанолу у хлороформі. Фракції, що містять продукт, упарювали. Одержали 1,10 г димеру 5a у вигляді білої піни (вихід 85 %). Його розчинили в 75 мл 2 %-го розчину *n*-толуолсульфо кислоти в суміші хлороформ:метанол (9:1). Через 5 хв реакційну суміш розбавляли 50 мл хлороформу та промивали водним NaHCO_3 (3×50 мл) і водою (50 мл), органічний шар висушували над Na_2SO_4 і упарювали. Детритильований димер 5b виділяли хроматографією на силікагелі в градієнті концентрації (0—3 %) метанолу у хлороформі. Відповідні фракції упарювали і одержали 764 мг білої піни (90 %).

764 мг димеру 5b (0,76 ммоль) конденсували з 1,01 г нуклеотидного компонента 3 (0,95 ммоль, 1,25 екв.) за присутності 570 мкл (7,14 ммоль) MeIm і 721 мг TPSCl (2,38 ммоль), а далі детритильовали виділений повністю захищений тример (0,62 ммоль, 81 %), як описано вище. Отримано 898 мг детритильованого тринуклеотиду у вигляді білої піни (0,54 ммоль, вихід 87 %). Її розчинили в суміші діоксан:конц. NH_3 , 2:3 (100 мл) і витримували протягом 3 діб за кімнатної температури. Розчин упарювали, залишок розподіляли між 25 мл 0,01 М триетиламонійбікарбонату (ТЕАБ), рН 7,5, та 25 мл CHCl_3 . Водний шар відділяли, наносили на колонку з сорбентом Molselect DEAE-25 («Reanal», Угорщина) в HCO_3^- -формі. Продукт виділяли в градієнті концентрації (0,01—0,3 М) ТЕАБ, рН 7,5. Потрібні фракції упарювали з етанолом, продукт розчиняли в етанолі (25 мл) та осаджували 250 мл насиченого KI в ацетоні. Осад відфільтровували, промивали ацетоном (5×5 мл) і гексаном (3×5 мл), висушували у вакуумі. Вихід білого порошку калійної солі 2 дорівнював 234 мг (0,24 ммоль, вихід після деблокування — 45 %;

сумарний вихід — 24 % відносно введеного в синтез ОН-компонента 4). R_f 0,72 (система Б). УФ (H_2O): $\lambda_{\text{max}} = 259$ нм ($\epsilon = 3,73 \cdot 10^4$).

Природний тример 2'-5' A_3 1 отримано описаним вище методом з сумарним виходом 26 % в розрахунку на вихідний ОН-компонент. Останнім у цьому разі слугував 2'-5'-N-захищений аденозин, отриманий, як описано в [12]. Продукт 1 — білий порошок, R_f 0,70 (система Б). УФ (H_2O): $\lambda_{\text{max}} = 259$ нм ($\epsilon = 3,76 \cdot 10^4$).

Біологічні експерименти. У цій роботі застосовано методику, розроблену в [15]. В експериментах використано лінію мишей Black C 57j — самиці і самці 3-місячного віку. Самці (375 шт.) були реципієнтами, а самиці (125 шт.) — донорами клітин кісткового мозку (ККМ).

Для пригнічення власної імунної системи і гемопоезу самців-реципієнтів опромінювали рентгенівськими променями. Опромінення здійснювали на рентген-установці РУМ-17, доза поглинання 6 Гр (напруга 200 кВ, сила струму 5,0 мА, фокусна відстань 50 см, фільтри Cu — 0,5 мм, Al — 1,0 мм, тотально).

Самицям-донорам вводили олігоаденілати перорально в різних концентраціях. Через годину — півтори їх присипляли ефіром і брали кістковий мозок із стегнової кістки задньої лапи. Тварину закріплювали на препарувальній дошці. Шкіру миші обробляли етиловим спиртом, особливо задню лапку, з якої брали кістковий мозок. Стерильними маленькими ножицями з прямими кінцями розрізали шкіру на стегні і вилучали стегнову кістку з епіфізами, очищали її від м'язів і обрізали з обох кінців суглоби. Всі процедури проводили на холоді, в стерильних умовах боксу. Далі в маленьку стерильну пробірку або флакон набирали 1 мл розчину Хенкса для культури клітин без барвника. У цей розчин вимивали зі стегнової кісточки кістковий мозок, вставляючи в медулярну порожнину голку, надіту на шприц із середовищем Хенкса, діаметр якої відповідає кістковомозковому каналу. Тим же шприцом проводили дезагрегацію тканини кісткового мозку, кілька разів набираючи і видуваючи розчин з пробірки. Суспензію через шприц пропускали повільно, щоб тиск всередині шприца був невеликий. В одній стегновій кістці миші налічується біля $1 \cdot 10^7$ клітин кісткового мозку (ККМ) [16]. ККМ підраховували в одержаній суспензії. Для цього в лунку планшетки для вірусологічних досліджень капали 10 мкл розчину барвника три-

панового синього або генціан віолету і 10 мкл суспензії ККМ та перемішували. ККМ підраховували в камері Горяєва під мікроскопом у 20 великих клітинах, загальну кількість ККМ в 1 мл розчину визначали за формулою, прийнятою при клінічних дослідженнях [17]. Для введення реципієнтам потрібна концентрація ККМ становить $0,75 \cdot 10^5$ клітин в 1 мл. Після визначення загальної кількості ККМ у суспензії її відповідно розводили у фізіологічному розчині.

Через 2—3 год після опромінення реципієнтам вводили в очний венозний синус по 100 мкл суспензії ККМ.

Після введення ККМ реципієнтів розміщували в чистих клітках по варіантах. Оскільки вони були ослаблені опроміненням, то отримували калорійне підсилене харчування і підкислену кип'ячену воду (2 мл 0,1 N HCl на 100 мл води) з додаванням антибіотика (цефазолін-КМП по 100 мг на 100 мл води) для попередження кишкових захворювань.

На 8-й день після введення ККМ і умертвіння реципієнтів обережно робили розтин черевної порожнини і відділяли селезінку. Поміщали її в розчин Кларка (1 об'єм конц. оцтової кислоти і 3 об'єми етилового спирту) для розчинення еритроїдних клітин. Наступного дня виймали селезінки з розчину Кларка і підраховували в них колонії стовбурових клітин через лупу. На темному фоні селезінки спостерігали світлі бугристі колонії. За кількістю таких колоній можна судити про чисельність колонієутворювальних одиниць у стромальній тканині.

Для вивчення впливу 2'-5'-олігоаденілатів та їхніх аналогів на апоптоз і проліферацію ККМ у системі *in vitro* використано лінію мишей C57B1/6 масою 18—25 г. Індуковану проліферацію досліджували, культивуючи суспензію клітин в CO₂-інкубаторі протягом 3 діб у пеніцилінових флаконах у середовищі RPMI з додаванням 300 мкг/мл глутаміну, 100 мкг/мл гентаміцину та 10 % сироватки ембріонів теляти.

Як стимулятор проліферації клітин використовували L-ФГА («Sigma», США) в концентрації 30 мкг/мл, препарат 2'-5'-A₃ 1 у концентраціях 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ М та препарат 2'-5'-епокси-A₃ 2 в концентраціях 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷ М. Контрольні проби інкубували в середовищі RPMI без додавання будь-яких речовин.

Аналізували розподіл окремих клітин за фазами мітотичного циклу методом протокової цито-

метрії. Таким чином проаналізовано не менше 20 тисяч клітин, взятих від 10 мишей у кожному варіанті. Забарвлення клітин проводили за допомогою флюорохромного барвника йодистого пропідію. Через 3 доби клітини з флаконів переносили у пробірки для протокового цитофлуориметра (10⁶ на пробу), центрифугували при 200 g протягом 10 хв, ресуспендували в 200 мкл ЗФР, 300 мкл гомотонічного лізуючого буфера (0,1 % цитрату натрію, 0,1 % тритон X-100 та 10 мкл PI, всі реагенти фірми «Sigma»). Після обережного струшування клітини інкубували за температури 22—25 °C протягом 30 хв у темряві. Визначали індекс проліферативної активності (ІПА) за відомою формулою, де:

$$\text{ІПА} = \frac{\% \text{ клітин, що знаходяться в (G2 + M + S) фазах}}{\% \text{ клітин, що перебувають у стані апоптозу}}$$

Усі цитометричні дослідження виконували на апараті FACSCap («Becton Dickinson», США), оснащеному аргонним лазером з довжиною хвилі 488 нм.

Для збору та аналізу даних використовували програму Cell Quest. Розподіл клітин за фазами клітинного циклу додатково оцінювали за допомогою програми Mod Fit LT 2.0.

Результати статистично оброблено із застосуванням *t*-критерію Стьюдента.

Результати і обговорення. Найчастіше для одержання 2'-5'-олігоаденілатів та їхніх аналогів застосовують один із варіантів фосфотриєфірного синтезу в розчині. Нами розроблено зручний метод одержання 2'-5'-триаденілату, що містить епокси-групу на його 3'-кінці (схема). Тринуклеотид 2 отримано на основі загального методу олігонуклеотидного синтезу з використанням конденсуючого реагенту TPSCI (триізопропілбензолсульфохлориду) за присутності N-метилімідазолу (MeIm) як нуклеофільного каталізатора реакції міжнуклеотидної конденсації [18].

Як нуклеотидний компонент олігонуклеотидного синтезу використовували N,5',3'-O-захищений аденозин-2'-фосфодієфір 3. 3'-Кінцевим нуклеозидним компонентом синтезу епоксианалога був 6-N-захищений 2'-3'-ангідроденозин 4. У синтезі триаденілату епокси-2'-5'-A₃ з використанням синтонів 3 і 4 в реакцію конденсації вводили 3 екв. нуклеофільного каталізатора відносно конденсуючого реагенту і 25 %-й надлишок Р-компонента 3 відносно нуклеозидного компонента реакції. Ре-

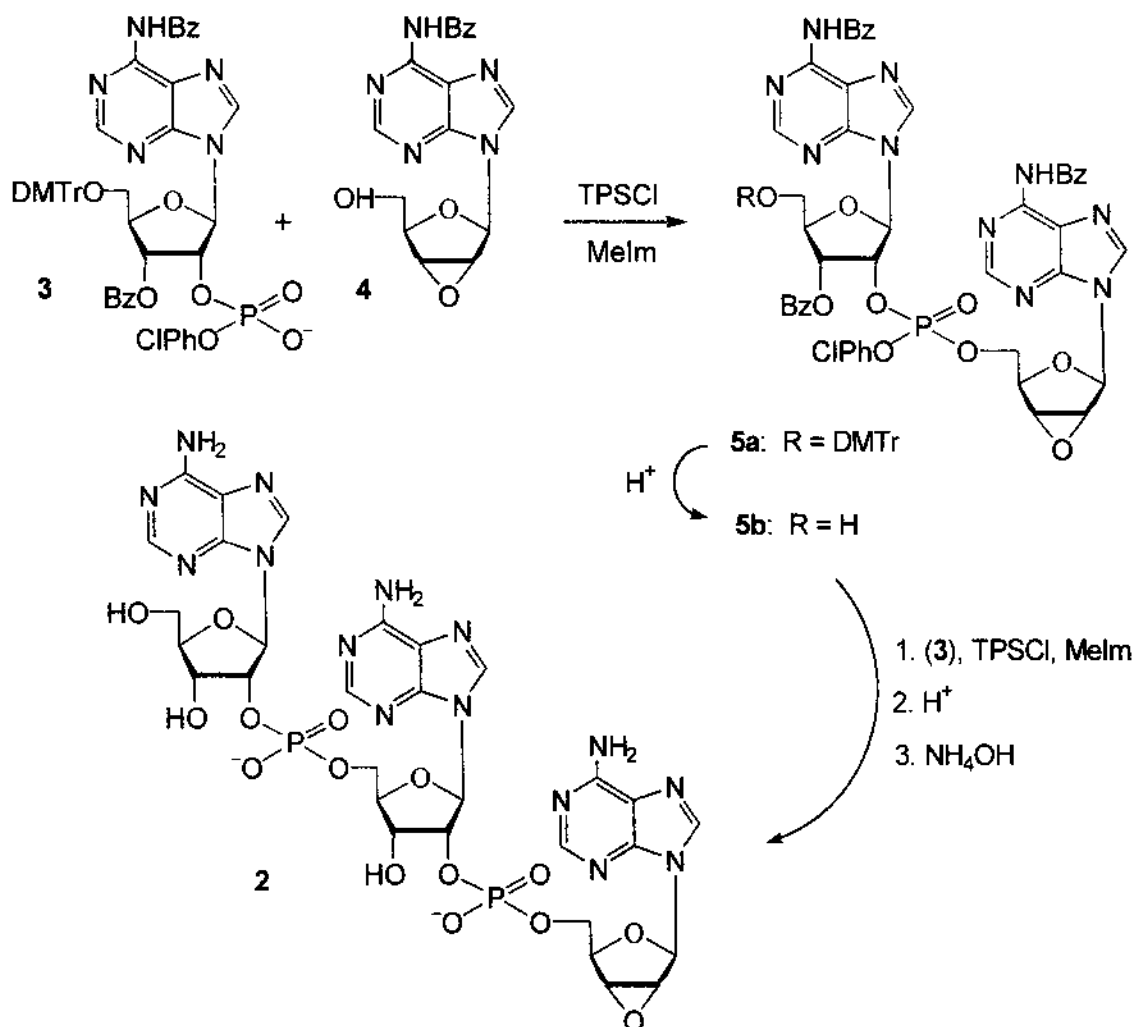


Схема синтезу 3'-епоксिमодифікованого 2'-5'-триаденілату. Bz — бензоіл-; DMTTr — диметокситритил-; MeIm — N-метилімідазол; TPSCI — 2,4,6-триізопропілбензолсульфохлорид

акції конденсації протікали швидко (10 хв) і з високим виходом (80—85 %). На всіх етапах синтезу продукти виділяли за допомогою препаративної хроматографії на силікагелі. Після повного видалення захисних груп тример 2 очищували аніонообмінною хроматографією. Вихід модифікованого триаденілату 2 становив 24 % в розрахунку на вихідний нуклеозидний компонент 4.

Аналогічним способом синтезували і немодифікований «кор» 2'-5'-A₃ 1. У цьому разі як 3'-кінцевий нуклеозидний компонент синтезу використано 2',3',N-захиснений аденозин [12]. Природний тример 2'-5'-A₃ одержано з виходом 26 % у розрахунку на вихідний OH-компонент.

Для біологічних експериментів використовували калієві солі 2'-5'-триаденілатів. Чистота одержан

них препаратів складала понад 95 % за даними HPLC.

У першій серії дослідів вивчали вплив 2'-5'-олігоаденілату та епоксипохідного на апоптоз і проліферацію ККМ у мишей лінії C57B1/6 *in vitro*. Результати цих дослідів представлено в табл. 1.

Як видно з експериментальних даних, представлених у табл. 1, дія 2'-5'-олігоаденілатів та їхніх аналогів на апоптоз і проліферацію ККМ залежить від дози. Природний 2'-5'-олігоаденілат у концентрації 10⁵ М гальмує апоптозні процеси у досліджених клітинах майже в два рази, а в концентрації 10⁻⁷—10⁻⁸ М менше впливає на цей процес. Зазначений препарат в усіх досліджених концентраціях стимулює проліферацію ККМ у півтора разу порівняно з контролем. Аналог природного

Таблиця 1

Вплив 2'-5'-триаденілату 1 та його епоксипохідного 2 на апоптоз і проліферацію клітин кісткового мозку (ККМ) у мишей лінії C57B1/6 *in vitro*

Препарат	Концентрація препарату	Відсоток ККМ, що знаходяться в стані		Індекс проліферативної активності, $M \pm m$	Достовірність
		апоптозу, $M \pm m$	поділу, $M \pm m$		
РРМІ	Контроль	44,7±2,3	18,28±0,49	0,41±0,001	—
L-ФГА	30 γ/мл	39,48±1,13	20,52±1,43	0,51±0,022	—
1	10 ⁻⁶ М	26,45±3,37	28,77±2,23	1,054±0,1	0,99
1	10 ⁻⁷ М	30,86±1,47	27,6±1,44	0,91±0,02	0,99
1	10 ⁻⁸ М	27,9±2,72	26,22±1,3	0,81±0,06	0,99
2	10 ⁻⁵ М	23,7±2,07	29,3±1,4	1,42±0,1	0,99
2	10 ⁻⁶ М	36,7±1,1	48,68±3,57	1,38±0,15	0,99
2	10 ⁻⁷ М	32,3±0,68	25,58±1,6	0,79±0,06	0,99

Таблиця 2

Вплив 2'-5'-триаденілату 1 та його епоксипохідного 2 на кількість колоній у селезінці мишей *in vivo*

Варіант	<i>M</i>	%	<i>δ</i>	<i>m</i>	<i>td</i>	Достовірність
Контроль	9,23	100	6,80	1,7	—	—
1, 10 ⁻⁵ М	9,25	208	7,80	1,70	4,00	0,99
1, 10 ⁻⁶ М	18,00	196	7,80	2,50	3,00	0,99
2, 10 ⁻⁵ М	19,70	213	8,10	3,70	2,60	0,99
2, 10 ⁻⁶ М	10,80	117	2,13	0,89	0,84	

«кору» епоксипохідного 2'-5'-триаденілату теж гальмує апоптоз у ККМ. В концентрації 10⁻⁵ М — це майже подвійне гальмування апоптозу. Він також підвищує рівень проліферації — в концентрації 10⁻⁶ М відповідний показник зростає більше, ніж удвічі.

Отже, епоксипохідний 2'-5'-олігоаденілат відрізняється від природного «кору» більшою активністю стосовно апоптичних і проліферативних процесів ККМ.

У другій серії дослідів вивчали вплив 2'-5'-триаденілату 1 та його 3'-епоксипохідного 2 в концентраціях 10⁻⁵ та 10⁻⁶ М на міграцію стовбурових ККМ мишей при сингенній трансплантації. В цих експериментах самицям-донорам вводили перорально препарати по 100 мкл розчину на мишу. Отримані результати наведено в табл. 2.

Дані табл. 2 демонструють вплив природного 2'-5'-А₃ 1 та його епоксипохідного 2 в концентраціях 10⁻⁵—10⁻⁶ М при пероральному введенні донорам. Як видно, природний «кор» у концентрації 10⁻⁵ М стимулює проліферацію стовбурових ККМ більш ніж у два рази порівняно з контролем. Цей же препарат у концентрації 10⁻⁶ М стимулює міграцію стовбурових ККМ майже удвічі, про що

можна судити за збільшенням кількості колоній, утворених на селезінці мишей-реципієнтів. Препарат 2 в концентрації 10⁻⁵ М також стимулює проліферацію стовбурових ККМ, кількість клітин зростає більше, ніж двократно. Цей же препарат у концентрації 10⁻⁶ М не впливає на міграцію стовбурових ККМ і відповідно на кількість колоній на селезінці мишей-реципієнтів, що майже не відрізняється від контрольного рівня.

Раніше нами показано, що в клітині 2'-5'-олігоаденілат тісно пов'язаний з системою cAMP (циклічний аденозинмонофосфат) [19]. Дія індукторів проліферації та циклічних нуклеотидів залежить від концентрації іонів Ca²⁺. У роботі [20] показано, що Ca²⁺ є важливим фактором регуляції проліферації клітин, у тому числі стовбурових кровотворних. Оскільки система 2-5A пов'язана з cAMP і cGMP, можна припустити, що стимулювальна дія олігоаденілатів і їхніх аналогів залежить від метаболізму Ca²⁺ в клітині.

Висновки. У результаті проведеної експериментальної роботи можна зробити висновок стосовно того, що введення природного «кору» 2'-5'-А₃ і його 3'-епоксипохідного стимулює міграцію СККМ

і впливає на апоптоз та проліферацію ККМ *in vitro*. Дія цих препаратів залежить від їхньої концентрації. У зв'язку з цим ми вважаємо, що 2'-5'-олігоаденілати та їхні похідні можуть бути перспективними препаратами при лікуванні онкологічних хвороб і захворювань крові.

Z. Yu. Tkachuk, I. Ya. Dubey, T. G. Yakovenko, L. I. Semernikova, S. O. Shapoval, V. S. Artemenko, L. V. Dubey

Synthesis of 2'-5'-oligoadenylates and study on their effect on proliferation and migration of bone marrow stem cells of mice *in vitro* and *in vivo*

Summary

2'-5'-Triadenylate and its 3'-epoxy analogue were synthesized by phosphotriester method in solution. These compounds are shown to accelerate the migration of the bone marrow stem cells in donor mice and their inclusion into the spleen of recipient mice upon syngenic transplantation *in vivo*. 2'-5'-oligoadenylates and their derivatives depending on their structure and concentration influence apoptosis and proliferation of mice bone marrow cells *in vitro*.

Keywords: 2'-5'-oligoadenylates, migration, oligonucleotide analogues, stem cells, proliferation, apoptosis.

З. Ю. Ткачук, І. Я. Дубей, Т. Г. Яковенко, Л. І. Семернікова, С. А. Шаповал, В. С. Артеменко, Л. В. Дубей

Синтез 2'-5'-олігоаденілатів та їх вплив на проліферацію та міграцію стоволових кліток кісткового мозгу мишей *in vitro* та *in vivo*

Резюме

Фосфотриэфірним методом в розстворі синтезовані 2'-5'-триаденілат та його 3'-епоксиданалог. Установлено, що ці препарати стимулюють міграцію стоволових кліток кісткового мозгу мишей-донорів та їх включення в селезенку мишей-реципієнтів при сингенній трансплантації *in vivo*. 2'-5'-олігоаденілати та їхні похідні в залежності від препарату та його концентрації впливають на апоптоз та проліферацію кліток кісткового мозгу мишей *in vitro*.

Ключові слова: 2'-5'-олігоаденілати, аналоги олигонуклеотидів, міграція, стоволові клітки, проліферація.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Домжук В. С., Домжене В. А., Шемквяичене В. И., Немейкайте А. И., Садаускас П. Б. Действие некоторых препаратов на стоволовые кроветворные клетки // Стволовые клетки и опухолевый рост.—Киев: Наук. думка, 1985.—С. 238—239.
2. Лукаш Л. Л., Васильовская С. В. Стволовые клетки *in vitro* как основа для создания современных технологий // Биополимеры и клетка.—2001.—17, № 3.—С. 203—211.
3. Гурач А. Е., Егоров И. К., Квяйярйянен А. И., Лурья Е. А., Михайлова А. А., Незмин Р. С., Петров Р. В., Рохлин О. В., Сидорова Е. В., Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Проблемы биологии развития. Иммуногенез и клеточная дифференцировка.—М.: Наука, 1978.—103 с.
4. Фриндель Э. Факторы стимулирующие и ингибирующие костномозговые стоволовые клетки мышей // Стволовые клетки и опухолевый рост.—Киев: Наук. думка, 1981.—С. 45—53.
5. Player M. R., Torrence P. F. The 2-5A system: modulation of viral and cellular processes through acceleration of RNA degradation // Pharmacol. Ther.—1998.—78.—P. 55—113.
6. Katayama Y., Batista M., Kao W. M., Hidalgo F., Pienc A. I., Thomas S. A., Frenette P. S. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem and progenitor cell egress from bone marrow // Cell.—2006.—124.—P. 407—421.
7. Shyu W. C., Lin C. C., Liu D. D., Li H. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial // Can. Med. Assoc. J.—2006.—174.—P. 927—933.
8. Adah S. A., Bayly S. F., Cramer H., Silverman R. H., Torrence P. F. Chemistry and biochemistry of 2',5'-oligoadenylate-based antisense strategy // Curr. Med. Chem.—2001.—8.—P. 1189—1212.
9. Запорожан В. Н., Бажора Ю. И. Стволовые клетки.—Одесса, 2004.—227 с.
10. Pat. US 5571799 (2'-5')Oligoadenylate analogues useful as inhibitors of host-vs.-graft response / Z. Tkachuk, E. Kvasyuk, G. Matsuka, I. Mikhailopulo // Publ. 1996.
11. Сидорук Л. Л., Дубей И. Я., Бобык В. И., Федоркова О. М., Ковеня Т. В., Рябенко Д. В., Сергиенко О. В., Трушина И. В., Погребной П. В., Мацука Г. Х. Терапевтические эффекты действия различных доз 2'-5'-олігоаденілата при експериментальном міозин-індуцированном повреждении миокарда // Доп. НАН України.—2001.—№ 9.—С. 161—165.
12. Kvasyuk E. I., Kulak T. I., Khrpach N. B., Mikhailopulo I. A., Uhlmann E., Charubala R., Pflieger W. Nucleotides XXIV. Preparative synthesis of trimeric (2'-5')oligoadenylic acid // Synthesis.—1987.—P. 535—541.
13. Oligonucleotide synthesis: a practical approach / Ed. M. J. Gait.—Oxford: IRL press, 1984.—218 p.
14. Robins M. J., Fouron Y., Mengel R. Nucleic acid related compounds. 11. Adenosine 2',3'-ribo-epoxide. Synthesis, intramolecular degradation and transformation into 3'-substituted xylofuranosyl nucleosides and lyxo-epoxide // J. Org. Chem.—1974.—39.—P. 1564—1570.
15. Till J. E., McCulloch E. A. A direct measurement of the radiosensitivity of normal mouse bone marrow cells // Radiat Res.—1961.—14.—P. 213—222.
16. Кузнецов С. А. Поддержание кроветворения и лимфопоэза в культурах на стромальных подложках // Методы культивирования клеток.—Л.: Наука, 1988.—С. 267.
17. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / Под ред. Е. А. Кост.—М.: Медицина, 1975.—382 с.
18. Efimov V. A., Buryakova A. A., Reverdatto S. V., Chakhmakheva O. G., Ovchinnikov Yu. A. Rapid synthesis of long-chain deoxyriboogonucleotides by the N-methylimidazole phosphotriester method // Nucl. Acids Res.—1983.—11.—P. 8369—8387.
19. Ткачук З. Ю., Ткачук В. В., Ткачук Л. В., Семернікова Л. І., Мацука Г. Х. Вплив 2'-5'-олігоаденілатів та їхніх аналогів на рівень циклічних нуклеотидів у системах *in vivo* та *in vitro* // Біополімери і клітина.—2001.—17, № 5.—С. 411—416.
20. Федоров Н. А. Циклические нуклеотиды и лейкогенез // Стволовые клетки и опухолевый рост.—Киев: Наук. думка, 1985.—224 с.

УДК 577.113.6:577.152

Надійшла до редакції 14.10.05