

УДК: 612.419+59.085+612.014.482

Д. І. Білько<sup>1</sup>, О. Ф. Сенюк<sup>2</sup>, І. З. Руссу<sup>1</sup>✉, І. О. Жалейко<sup>1</sup>, Н. М. Білько<sup>1</sup><sup>1</sup>Національний університет "Києво-Могилянська академія", вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04655, Україна<sup>2</sup>Інститут проблем безпеки атомних електростанцій НАН України, вул. Кірова, 36а, м. Чорнобиль, 07270, Україна

## ХАРАКТЕР ВЗАЄМОДІЇ ОПРОМІНЕНИХ І НЕОПРОМІНЕНИХ КЛІТИН У КУЛЬТУРІ ДИФУЗІЙНИХ КАМЕР *IN VIVO*

**Мета:** визначити характер взаємодії між неопроміненими клітинами кісткового мозку мишей та опроміненим мікрооточенням у культурі дифузійних камер *in vivo*.

**Матеріали і методи.** Для вивчення особливостей взаємодії між клітинами було використано оригінальну модель культивування кісткомозкових клітин інтактних мишей лінії Balb/c у черевній порожнині опроміненої особи у гелевих дифузійних камерах, що забезпечували доступ живильних речовин та сигнальних молекул ззовні.

**Результати.** Виявлено, що клітини кісткового мозку мишей, які не були опромінені, піддавалися безпосередньому впливу факторів мікрооточення організму опроміненої тварини-реципієнта. Так, при культивуванні клітин в організмі неопромінених мишей було виявлено низькі показники колонієутворення у зв'язку з відсутністю додаткового викиду ростових факторів. У той же час опромінення тварин-реципієнтів камер та, меншою мірою, обробка їх циклофосфамідом, який є цитостатиком, підвищували проліферативну активність кісткомозкових клітин, які знаходилися у камері, що свідчило про значний вплив факторів, які були виділені клітинами у відповідь на дію іонізуючої радіації. Вплив сигнальних молекул здійснювався крізь стінку дифузійної камери, викликаючи стимуляцію колонієутворюючої активності. При цьому слід зазначити, що для передачі сигналу безпосередній контакт між клітинами не був необхідним.

**Висновки.** Стимулюючий вплив на колонієутворюючу здатність неопромінених гемопоетичних клітин-попередників, поміщених у дифузійні камери, який здійснюється клітинними та позаклітинними структурами, що формують зовні мікрооточення, пов'язується із дією ростових факторів, які виробляються опроміненими клітинами та впливають на неопромінені клітини через стінку камер, що недоступна для клітин, проте вільно пропускає дифундуючі молекули.

**Ключові слова:** гемопоез, клітини-попередники, іонізуюча радіація, культура клітин.

*Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18. С. 299–304.*

D. I. Bilko<sup>1</sup>, O. F. Seniuk<sup>2</sup>, I. Z. Russu<sup>1</sup>✉, I. O. Zhaleiko<sup>1</sup>, N. M. Bilko<sup>1</sup><sup>1</sup>National University "Kyiv-Mohyla Academy", Skovorody Str., 2, Kyiv, 04655, Ukraine<sup>2</sup>Institute for Safety Problems of Nuclear Power Plants NAS of Ukraine, Kirova Str., 36a, Chornobyl, 07270, Ukraine

## Character of interaction between irradiated and non-irradiated cells in culture in diffusion chambers in vivo

**Objective.** Current investigation is devoted to determination of interaction type between the non-irradiated murine bone-marrow cells and irradiated microenvironment in cell culture in diffusion chambers in vivo.

**Materials and methods.** To study the characteristics of interaction between the cells we implemented an original cultivation model with bone-marrow cells of intact Balb/c mice inserted in the diffusion chambers in peritoneum of irradiated animals (it provided the access of nutrients and signaling molecules from outside).

**Results.** As a result of investigations performed, we have determined the direct influence of microenvironment factors of irradiated mice organism on the non-irradiated bone-marrow cells. Thus, cultivation of the cells in the organism of non-irradiated mice revealed a low colony-forming activity due to the absence of additional growth factors

✉ Руссу Ірина Зіновіївна, e-mail: skrynka1@gmail.com

© Білько Д. І., Сенюк О. Ф., Руссу І. З., Жалейко І. О., Білько Н. М., 2013

release. At the same time an irradiation of the recipient mice and, to a lesser extent, a treatment by cytostatic agent cyclophosphamide increased the proliferative activity of bone-marrow cells in chambers, which indicated the pronounced impact of factors released by the cells as an effect of ionizing radiation. Influence of signaling molecules was realized through the wall of diffusion chamber, causing the stimulation of colony-forming activity. Moreover, we should mention that a direct contact between cells was not necessary for the delivery of a signal.

**Conclusions.** Stimulating influence on the colony-forming activity of non-irradiated hematopoietic progenitor cells in diffusion chambers, which is performed by cellular and extra-cellular structures forming external microenvironment, is associated with the action of growth factors produced by irradiated cells and affecting non-irradiated cells through the chamber wall, which is impermeable for the cells but freely transmits diffusible molecules.

**Key words:** hematopoiesis, progenitor cells, ionizing radiation, cell culture.

*Problems of radiation medicine and radiobiology. 2013;18:299–304.*

На сьогодні відомо, що гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК) мають більшу радіочутливість, ніж інші системи клітинного самооновлення. Цей висновок було отримано вченими на основі проведених експериментальних робіт, що показали наявність пошкодження гемопоетичних клітин-попередників при дії не лише великих, але й малих доз іонізуючого випромінювання [1]. У період регенерації кісткового мозку відмічається не тільки посилення темпів поділу стовбурових клітин, а й скорочення часу дозрівання клітинних елементів [2–4]. Критичними для відновлення гемопоезу є кількість та якість ГСК, що вижили після опромінення. Можливість відновлення гемопоезу спостерігається, якщо більше 5 % стовбурових клітин та клітин-попередників залишаються інтактними та продовжують проліферацію і диференціювання [5].

Вирішальна роль у регуляції відновлення поліпотентних кровотворних клітин належить мікрооточенню, котре при взаємодії з ГСК підтримує сталість їх кількісного складу у фізіологічних умовах та забезпечує його відновлення у випадку ураження [6]. Підсилення проліферативної активності ГСК спостерігається, починаючи з опромінення в дозах 0,2–0,3 Гр [7]. Механізм впливу мікрооточення на гомеостаз ще мало вивчений. Проте на сьогодні відомо, що його елементи здійснюють контроль за процесами кровотворення як через продуковані ними цитокіни, так і завдяки безпосереднім контактам з ГСК. Міжмембранні зв'язки при цьому слугують для передачі необхідних речовин, міграції та хоумінгу клітин-попередників у специфічні ділянки кровотворної тканини та транспортування гемопоетичних ростових факторів [8].

Культуральні дослідження кісткового мозку після дії іонізуючої радіації свідчать про те, що навіть при нормалізації кількісних показників периферичної крові та кісткового мозку здатність кровотворних елементів до колонієутворення протягом тривалого часу може бути пригніченою, і при цьому переважають еозинофільно-нейтрофільні колонії [3].

It is well-known, that hematopoietic stem cells (HSC) are characterized by the higher radiosensitivity, than other self-renewal cell systems. This conclusion was made by the researchers basing on experimental works performed, which have shown hematopoietic progenitor damage under the influence of high doses, as well as low doses of ionizing radiation [1]. During the bone marrow regeneration period not only stem cell division rate is accelerated, but also the cell maturation period shortens [2–4]. Critical points for hematopoietic renewal are the quantity and the quality of HSC survived after irradiation. The possibility of hematopoietic recovery is observed when more than 5 % of the stem and progenitor cells remain intact and continue to proliferate and differentiate [5].

The essential role in regulation of polypotent hematopoietic cell renewal belongs to microenvironment, which interacts with HSC and sustains their number constant in physiological state, as well as provides their recovery after damage [6]. The increase in HSC proliferative activity is revealed starting from 0.2–0.3 Gy irradiation [7]. Mechanism of microenvironment influence on homeostasis is still poorly known. However, it is obvious that its elements control the hematopoietic processes through cytokine production and direct contacts with HSC. The intermembrane contacts serve for the delivery of necessary compounds, migration and homing of progenitor cells in specific regions of hematopoietic tissue, as well as for the transport of hematopoietic growth factors [8].

Bone marrow investigations in cell culture after the influence of ionizing radiation have shown that even after the normalization of quantitative indices of peripheral blood and bone marrow the colony-forming activity of hematopoietic elements may be suppressed during a protracted period. Moreover, eosinophilic and neutrophilic colonies are prevalent [3].

## МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Визначити характер взаємодії між неопроміненими клітинами кісткового мозку мишей та опроміненим мікрооточенням у культурі дифузійних камер *in vivo*.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для вивчення особливостей взаємодії між опроміненими та неопроміненими клітинами кісткового мозку було використано оригінальну модель культивування кістковомозкових клітин контрольної тварини у черевній порожнині опроміненої особини у гелевих дифузійних камерах з порами розміром 0,22 мікрон, що не дозволяє клітинам проникати ззовні, але забезпечує доступ живильних речовин і сигнальних молекул [3]. Експериментальні дослідження були проведені на мишах лінії Balb/c. Їх розділяли на такі групи: неопромінені миші-реципієнти дифузійних камер (група НКМ НР); неопромінені реципієнти, оброблені за добу до оперування циклофосфамідом у дозі 0,2 мг на 1 г ваги (група НКМ НР ЦФ); опромінені реципієнти (група НКМ ОР). Була використана модель внутрішнього опромінення мишей. Для досягнення промислових навантажень, пов'язаних з інкорпорацією мишами  $^{137}\text{Cs}$ , за яких існує висока імовірність реєстрації дистанційних впливів опромінених клітин на неопромінені клітини, враховували результати, описані Д. А. Сутковим і Є. М. Горбанем [9]. Автори цієї роботи отримали суттєві зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у безпородних шурів, які щоденно вживали корми з радіоактивністю на рівні 600 кБк.

У нашій роботі тривала (впродовж 74 днів) інкорпорація  $^{137}\text{Cs}$  з питтям (з розрахунку 6,0 кБк на одну мишу) зумовила накопичення в організмі миші радіоактивності в межах від 14 до 24 кБк, що й було визначено на  $\gamma$ -спектрометрі СР-4900В (Nokia, Фінляндія). При цьому середня розрахункова активність склала  $(17,0 \pm 1,0)$  кБк на одну тварину.

Джерелом клітин кісткового мозку у лабораторних тварин були стегові кістки. Тварин забивали методом первікальної дислокації спинного мозку. Матеріал ресуспендували у живильному середовищі шляхом пропускання крізь голки зменшеного діаметра. Клітинну суспензію змішували з основою агарового середовища (середовище 199, фетальна теляча сироватка, агар, антибіотики пеніцилін і стрептоміцин). Культивування клітин кісткового мозку проводили у гелевих дифузійних камерах [3]. Середовище з кровотворними клітинами в агарі вводили шприцом у камери і занурювали в черевну порожнину тварин-реципієнтів. Перед операцією мишей наркотизували внутрішньочеревним

## STUDY OBJECTIVE

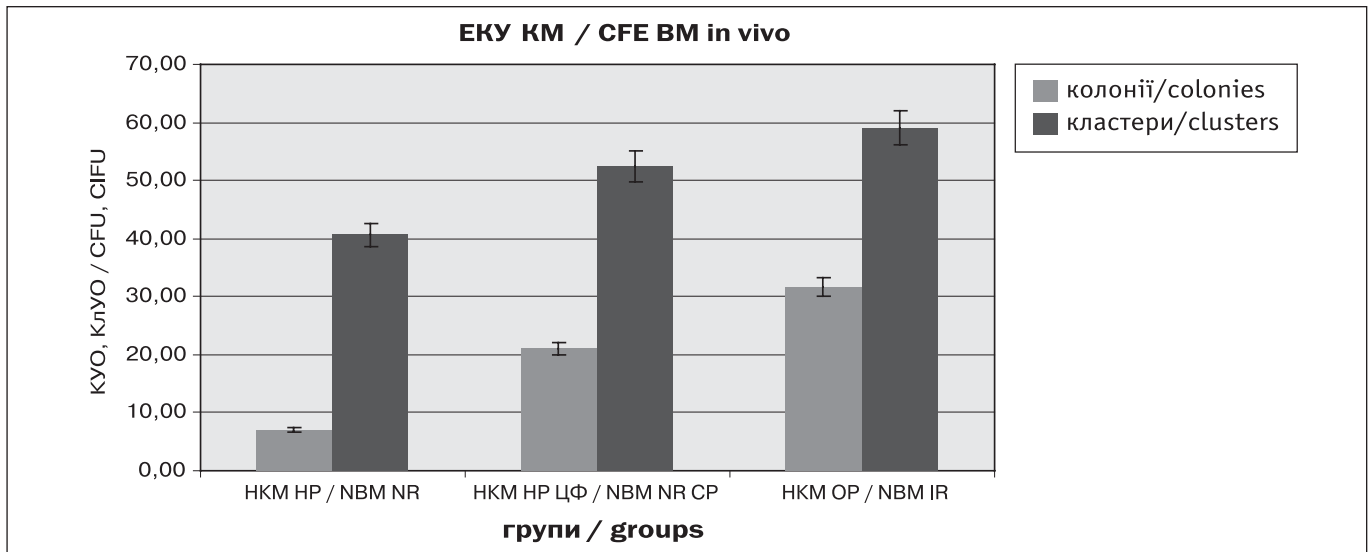
The objective of investigation is to determine the character of interaction between non-irradiated murine bone-marrow cells and irradiated microenvironment in culture in diffusion chambers *in vivo*.

## MATERIALS AND METHODS

To study the characteristics of interaction between irradiated and non-irradiated cells we implemented the original cultivation model with bone-marrow cells of intact Balb/c mice inserted in the diffusion chambers with 0.22  $\mu\text{m}$  pores in peritoneum of irradiated animals; it prevented the cells entering from outside, but provided the access of nutrients and signaling molecules [3]. Experimental research was performed using Balb/c mice. They were divided into several groups: non-irradiated mice – the recipients of diffusion chambers (NBM NR group); non-irradiated recipients, treated 1 day prior to operation by cyclophosphamide in the dose of 0.2 mg per 1 g of mass (NBM NR CP group); irradiated recipients (NBM IR group). We used the model of mice internal irradiation. The results described by Sutkovoy and Gorban [9] were used to obtain the radiation load caused by  $^{137}\text{Cs}$  incorporation in the organism of mice, which provided a high-probability registering of the distant influence of irradiated cells on the non-irradiated ones. These researchers achieved the pronounced deviations of pro-oxidant and antioxidant homeostasis in outbred rats, which had received the food with radioactivity of 600 kBq per day.

In the current work a protracted (during 74 days) incorporation of  $^{137}\text{Cs}$  from water (6.0 kBq per mice) has caused the concentration of radioactivity in murine organism in the range from 14 to 24 kBq, which was determined using  $\gamma$ -spectrometer СР-4900В (Nokia, Finland). Furthermore, mean estimated activity was  $17.0 \pm 1.0$  kBq per animal.

The source of bone-marrow cells of laboratory animals were their femoral bones. Animals were killed by cervical dislocation of spinal cord. Material was resuspended in cultural medium by transmitting through the needles continually decreasing their diameter. Cell suspension was mixed with the basic agar medium (medium 199, fetal calf serum, agar, penicillin and streptomycin). Cell cultivation was performed in gel diffusion chambers [3]. Medium with hematopoietic cells in agar was injected in chambers using syringe and inserted in peritoneum of recipient mice. Prior to operation the mice were anesthetized by intraperitoneal injection of 1 %



**Рисунок 1.** Ефективність колонієутворення (ЕКУ) клітин-попередників кісткового мозку неопромінених мишей-донорів лінії Valb/c при культивуванні у дифузійних камерах *in vivo* в організмі мишей-реципієнтів; кількість КУО та КЛУО розрахована на  $1 \cdot 10^5$  експлантованих клітин.

**Figure 1.** Colony-forming efficiency (CFE) of bone-marrow progenitor cells of non-irradiated Balb/c donor mice under cultivation in diffusion chambers *in vivo* in the organism of recipient mice; number of CFU and CIFU is estimated per  $1 \cdot 10^5$  explanted cells.

введенням 1 % розчину тіопенталу натрію. У черевну порожнину кожної тварини вводили по дві камери.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У культурі клітин у дифузійних камерах *in vivo* визначали функціональну активність кровотворних клітин-попередників, яка віддзеркалює стан кровотворення в цілому [2]. В результаті культивування кісткового мозку контрольних тварин протягом 10–12 діб у дифузійних камерах у черевній порожнині неопромінених реципієнтів (група НКМ НР) виявилось, що колонієутворююча активність клітин кісткового мозку була низькою – кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) становила  $7,0 \pm 0,4$ , кластероутворюючих одиниць (КЛУО) –  $40,7 \pm 2,0$  кластерів на  $1 \cdot 10^5$  експлантованих клітин. При цьому культивування кісткового мозку в дифузійних камерах, імплантованих в організм неопромінених реципієнтів, оброблених за добу циклофосфамідом (група НКМ НР ЦФ), призводило до формування  $21,0 \pm 1,0$  колонії і  $52,5 \pm 2,6$  кластерів на  $1 \cdot 10^5$  експлантованих клітин. У той же час показники колонієутворення в культурі кісткового мозку неопромінених тварин у дифузійних камерах, імплантованих у черевну порожнину опромінених мишей-реципієнтів (група НКМ ОР), дорівнювали  $31,7 \pm 1,6$  колонії і  $59,0 \pm 2,9$  кластерів на  $1 \cdot 10^5$  експлантованих клітин (рис. 1).

Низькі показники колонієутворення, отримані при культивуванні кісткового мозку контрольних тварин в

thiopental sodium solution. Two chambers were inserted in the abdominal cavity of each animal.

### RESULTS AND THEIR DISCUSSION

Functional activity of hematopoietic progenitor cells, which is indicative for the state of hemato-poiesis integrally, was determined in cell culture in diffusion chambers *in vivo* [2]. Cultivation of the control animals' bone marrow during 10–12 days in diffusion chambers in the abdominal cavity of non-irradiated recipient animals (NBM NR group) resulted in a low colony-forming activity of the bone-marrow cells. The number of colony-forming units (CFU) was  $7.0 \pm 0.4$ , number of cluster-forming units (CIFU) was  $40.7 \pm 2.0$  clusters per  $1 \cdot 10^5$  cells explanted. At that the bone marrow cultivation in diffusion chambers implanted in the organism of non-irradiated recipients treated by cyclophosphamide (NBM NR CP group) led to forming of  $21.0 \pm 1.0$  colonies and  $52.5 \pm 2.6$  clusters per  $1 \cdot 10^5$  explanted cells. At the same time, the colony-forming efficiency of non-irradiated bone marrow in diffusion chambers implanted in irradiated recipient mice peritoneum (NBM IR group) was  $31.7 \pm 1.6$  colonies and  $59.0 \pm 2.9$  clusters per  $1 \cdot 10^5$  explanted cells (Fig. 1).

Low colony-forming indices obtained after the intact bone marrow cultivation in the non-irradi-

організмі неопромінених реципієнтів першої групи, співпадають із даними літератури і пов'язані з відсутністю додаткового викиду ростових факторів у організмі мишей-реципієнтів.

У той же час обробка реципієнта циклофосфамідом у другій групі призводила до вивільнення факторів, які несли подвійну функцію – як джерело колонієутворюючої активності та водночас пригнічення імунологічної реактивності організму. У даному випадку останній фактор не відіграє провідної ролі, оскільки робота проводилася у сингенній системі.

У разі опромінення реципієнта було отримано найбільшу ЕКУ в культурі клітин неопроміненого кісткового мозку. Достовірне збільшення колонієутворення у культурі неопроміненого кісткового мозку в опроміненому організмі свідчить про значний вплив ростових факторів, які були виділені клітинами у відповідь на дію іонізуючої радіації [2].

Аналіз препаратів, отриманих із культур після їх центрифугування на цитоспіні (Shandon, США) та забарвлення за Романовським-Гімзою, показав, що для передачі цих сигналів безпосередній контакт опромінених клітин із сусідніми клітинами не є необхідним. Обробка реципієнтів циклофосфамідом, який є цитостатиком, і ще більше опромінення тварини-реципієнта камер впливали на проліферативну активність кісткомозкових клітин, які знаходилися у камері. Беручи до уваги те, що культивування відбувалося в напіврідкому агарі у дифузійних камерах *in vivo*, і для оцінки проліферативної активності використовували спосіб підрахунку кількості колоній-клонів, можна з впевненістю сказати, що вплив сигнальних молекул здійснювався крізь стінку дифузійної камери, викликаючи стимуляцію колонієутворюючої активності за відсутності безпосереднього контакту між опроміненими і неопроміненими клітинами.

## ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень було виявлено, що клітини кісткового мозку мишей, які не були опромінені, зазнавали безпосереднього впливу факторів мікрооточення організму опроміненої тварини-реципієнта. Так, при культивуванні клітин в організмі неопромінених мишей було виявлено низькі показники колонієутворення у зв'язку з відсутністю додаткового викиду ростових факторів. У той же час обробка реципієнта циклофосфамідом призводила до вивільнення факторів, які були джерелом колонієутворюючої активності для неопромінених клітин. Разом з тим, при культивуванні кісткового мозку в опроміненому організмі було виявлено достовірне збільшення ко-

ated organism of the recipients from the first group are consistent with the literature data and are associated with the absence of additional growth factors release in the organism of recipient mice.

At the same time treatment of the recipient by cyclophosphamide in the second group led to the release of factors having a double function; they were the source of colony-forming activity and depressed the immune reactivity of the organism. In this specific case, the last factor is not leading due to the fact that this work was performed in a syngenic system.

After the irradiation of recipient we obtained the highest CFE in the non-irradiated bone-marrow cell culture. Pronounced increase in colony forming of non-irradiated bone-marrow in irradiated organism indicated the significant impact of growth factors released by the cells as a result of irradiation [2].

Preparations obtained from the culture after centrifugation in the cytospin (Shandon, USA) and Giemsa staining had shown that the direct contact between irradiated and non-irradiated cells was not necessary for the delivery of a signal. Irradiation of the recipient mice and, to a lesser extent, treatment by cytostatic cyclophosphamide increased the proliferative activity of bone-marrow cells in chambers. Taking into account the facts that cultivation was performed in semi-solid agar in diffusion chambers *in vivo* and the estimation of colonies-clones was used for the assessment of proliferative activity, we can assume that the influence of signaling molecules was realized through the wall of diffusion chamber causing stimulation of colony-forming activity without direct contact between irradiated and non-irradiated cells.

## CONCLUSIONS

As a result of investigations performed we determined the direct influence of microenvironment factors of irradiated mice organism on the non-irradiated bone-marrow cells. Thus, cultivation of the cells in the organism of non-irradiated mice revealed a low colony-forming activity due to the absence of additional growth factors release. At the same time treatment of the recipient by cyclophosphamide led to the release of factors, which were the source of colony-forming activity for non-irradiated cells. Along with that, the bone marrow cultivation in irradiated organism resulted in a significant increase in colony forming,

лоніеутворення, що свідчить про значний вплив ростових факторів, які були виділені клітинами у відповідь на дію іонізуючої радіації. При цьому для передачі сигналу безпосередній контакт опромінених клітин із сусідніми клітинами не є необхідним.

Стимулюючий вплив на колоніеутворюючу здатність неопромінених гемопоетичних клітин-попередників, поміщених у камери, який здійснюється клітинними та позаклітинними структурами, що формують зовні мікрооточення, пов'язується з безпосередньою дією ростових факторів, які виробляються опроміненими клітинами та впливають на неопромінені клітини через стінку камер, що недоступна для клітин, проте вільно пропускає дифундуючі молекули.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Серкіз Я. І. Радіобіологічні ефекти аварії на ЧАЕС / Я. І. Серкіз, Л. Б. Пінчук. – К. : Наук. думка, 1992. – 172 с.
2. Гематологічні ефекти в ранньому та віддаленому періодах після аварії на Чорнобильській АЕС / В. Г. Бебешко, І. С. Дягіль, С. В. Клименко [та ін.] // Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції / за ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. – К. : ДІА, 2007. – С. 327–355.
3. Characterization of the interaction between stromal and haematopoietic progenitor cells in expansion cell culture models / N. M. Bilko, I. A. Votjakova, S. V. Vasilovska, D. I. Bilko // Cell Biol. Int. – 2005. – Vol. 29 (1). – P. 83–86.
4. Tavassoli, M. V. Bone marrow: the seedbed of blood / M. V. Tavassoli // Blood, pure and eloquent: a story of discovery, of people, and of ideas / ed. M. M. Wintrobe. – New York : McGraw-Hill, 1980. – P. 57–79.
5. Hematopoietic cell renewal as the limiting factor in low-level radiation exposure: diagnostic implications and therapeutic options / T. M. Fliedner, I. Friesecke, D. Graessle [et al.] // Mil. Med. – 2002. – Vol. 167 (2 Suppl). – P. 46–48.
6. Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy / P. Mauch, L. Constine, J. Greenberger [et al.] // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. – 1995. – Vol. 3. – P. 1319–1339.
7. Grande, T. Residual damage of lymphohematopoietic repopulating cells after irradiation of mice at different stages of development / T. Grande, F. Varas, J. A. Bueren // Exp. Hematol. – 2000. – Vol. 28, No 1. – P. 87–95.
8. Cronkite E. P. Are stem cells exposed to ionizing radiation in vivo as effective as nonirradiated transfused stem cells in restoring hematopoiesis? / E. P. Cronkite, T. Inoue, Y. Hirabayashi, J. Bullis // Exp. Hematol. – 1993. – Vol. 21. – P. 823–842.
9. Сутковой Д. А. Особенности свободнорадикальных процессов в крови и мозге у первого поколения потомства крыс, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения / Д. А. Сутковой, Е. Н. Горбань // Вестн. гигиены и эпидемиол. – 2001. – Т. 5, № 1. – С. 92–95.

which indicated the pronounced impact of factors released by the cells as a result of irradiation. Moreover, we should mention that a direct contact between cells was not necessary for the delivery of the signal.

Stimulating influence on the colony-forming activity of non-irradiated hematopoietic progenitor cells in diffusion chambers, which is performed by cellular and extra-cellular structures forming external microenvironment, is associated with the action of growth factors produced by irradiated cells and affecting non-irradiated cells through the chamber wall, which is impermeable for the cells but freely transmits diffusible molecules.

### REFERENCES

1. Serkiz YI, Pinchuk LB. [Radiobiological effects of the Chernobyl NPP accident]. Kyiv: Naukova dumka; 1992. 172 p. Ukrainian.
2. Bebeshko VG, Dyahil JS, Klimenko SV, et al. [Hematologic effects of early and remote period after the Chernobyl accident]. In: Vozianov AF, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Medical consequences of the accident in Chernobyl nuclear power plant]. Kyiv: DIA; 2007. p. 327–55. Ukrainian.
3. Bilko NM, Votjakova IA, Vasilovska SV, Bilko DI. Characterization of the interaction between stromal and haematopoietic progenitor cells in expansion cell culture models. Cell Biol Int. 2005;29(1):83–6.
4. Tavassoli MV. Bone marrow: the seedbed of blood. In: Wintrobe MM, editor. Blood, pure and eloquent: a story of discovery, of people, and of ideas. New York: McGraw-Hill; 1980. p. 57–79.
5. Fliedner TM, Friesecke I, Graessle D, Paulsen C, Weiss M. Hematopoietic cell renewal as the limiting factor in low-level radiation exposure: diagnostic implications and therapeutic options. Mil Med. 2002 Feb;167(2):46–8.
6. Mauch P, Constine L, Greenberger J, Knospe W, Sullivan J, Liesveld JL, Deeg HJ. Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1995 Mar 30;3:1319–39.
7. Grande T, Varas F, Bueren JA. Residual damage of lymphohematopoietic repopulating cells after irradiation of mice at different stages of development. Exp Hematol. 2000;28(1):87–95.
8. Cronkite EP, Inoue T, Hirabayashi Y, Bullis J. Are stem cells exposed to ionizing radiation in vivo as effective as nonirradiated transfused stem cells in restoring hematopoiesis? Exp Hematol. 1993;21:823–42.
9. Sutkovoy DA, Gorban EN. [Features of free radical processes in the blood and marrow of the first-generation offspring of rats exposed to ionizing radiation]. Vestnik gigieny i epidemiologii. 2001;5(1):92–5. Russian.