

Л.І. Сімонова,  
В.З. Гертман,  
Л.В. Білогурова,  
А.М. Куров

ДУ Інститут медичної  
радіології ім. С.П. Григор'єва  
АМН України, Харків

## Експериментальне дослідження ефективності трансплантації стовбурових клітин кісткового мозку при різних дозах опромінення

### Experimental investigation of stem cell transplantation efficacy at various exposure doses

**Цель работы:** Изучение эффективности трансплантации стволовых клеток костного мозга (СККМ) у крыс, подвергавшихся рентгеновскому облучению в разных дозах.

**Материалы и методы:** Исследования проведены на половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар весом 180–200 г, подвергавшихся рентгеновскому облучению в дозах 3,5, 5,0 и 6,5 Гр. Взвесь стволовых клеток костного мозга крыс (1,0 млн клеток в 1 мл) вводили в хвостовую вену в объеме 0,5 мл через 24 часа после облучения. Критериями эффективности трансплантации служили показатели выживаемости, средней продолжительности жизни, состояние периферической крови на протяжении 30 суток после воздействия.

**Результаты:** Эффективность трансплантации СККМ облученным животным демонстрировала определенную зависимость от дозы облучения. При минимально летальной дозе (3,5 Гр) наблюдалась только тенденция к повышению выживаемости облученных крыс по сравнению с контролем (на 10 %,  $p > 0,05$ ), однако значимо повышалось количество лейкоцитов в периферической крови и восстанавливалась лейкограмма. При облучении в полuletальной дозе (5,0 Гр) трансплантация СККМ достоверно повышала выживаемость облученных животных (на 20 %,  $p < 0,05$ ), а также существенно влияла на кроветворение — купировала развитие анемии, лейкопении, восстанавливалась лейкограмма. При облучении в дозе 6,5 Гр и трансплантации СККМ также отмечены тенденции к повышению выживаемости и некоторое улучшение состояния кроветворения.

**Выводы:** Трансплантация стволовых клеток костного мозга в определенной степени повышала выживаемость подопытных животных при всех использованных дозах облучения, при этом наиболее высокое и достоверное повышение выживаемости (на 20 %) наблюдалось при облучении в полuletальной дозе (5,0 Гр). Трансплантация стволовых клеток костного мозга также существенно улучшала состояние кроветворения у животных при всех применявшихся дозах облучения — уменьшались проявления анемии, лейкопении, восстанавливалась лейкограмма. Наиболее выраженные эффекты в восстановлении кроветворения зафиксированы при лечении животных, облученных в полuletальной дозе (5,0 Гр). Полученные данные позитивного влияния трансплантации стволовых клеток костного мозга на восстановление кроветворения подтверждают целесообразность применения этого метода при миелодепрессиях радиационного генеза.

**Ключевые слова:** стволовые клетки, костный мозг, крысы, трансплантация, рентгеновское облучение, выживаемость, кроветворение.

**Objective:** To study the efficacy of bone marrow stem cell transplantation to the rats exposed to various doses of x-rays.

**Material and Methods:** The study involved mature male Wistar rats weighing 180–200 g exposed to x-rays at a dose of 3.5, 5.0 and 6.5 Gy. 0.5 ml of bone marrow stem cell suspension (1.0 mln cells per 1 ml) was introduced to the tail vein 24 hours after the exposure. Survival, mean life span, the state of peripheral blood, for 30 days after the exposure were used as efficacy criteria.

**Results:** Bone marrow stem cell transplantation efficacy depended on the exposure dose. Only a tendency to survival increase was observed at a minimal lethal dose (3.5 Gy) (10 %,  $P > 0,05$ ), but the amount of leucocyte in the peripheral blood increased considerably and the leucocyte count restored. At exposure to semi-lethal dose (5.0 Gy) bone marrow stem cell transplantation significantly increased survival of the exposed animals (by 20 %,  $P < 0.05$ ) as well as considerably influenced hemopoiesis, controlled anemia and leucopenia, restored leucocyte count. The dose of 6.5 Gy and bone marrow stem cell transplantation showed the tendency to increased survival and some improvement of hemopoiesis.

**Conclusion:** Bone marrow stem cell transplantation increased survival of the experimental animals at all doses but the highest and significant increase of survival (by 20%) was observed at exposure to semi-lethal dose (5.0 Gy). Bone marrow stem cell transplantation also considerably improved hemopoiesis in the exposed animals, controlled anemia and leucopenia and restored leucocyte count. The most pronounced effects were noted at a dose of 5.0 Gy. The obtained findings of positive influence of bone marrow stem cell transplantation prove the possibility to use this method in radiation-induced myelosuppressions.

**Key words:** stem cells, bone marrow, rats, transplantation, x-rays, survival, hemopoiesis.

Історія пересаджень кісткового мозку з метою відновлення кровотворення при променевої хворобі налічує понад півсторіччя. За цей час у експериментальних та клінічних дослідженнях були отримані численні дані, іноді супе-

речливі. В експериментах поряд з позитивними ефектами пересаджень кісткового мозку опромінені тваринам були отримані факти, що свідчили як про їх відсутність, так і про негативні ефекти трансплантацій. У дослідженнях

на тваринах, здебільшого гризунах, було виявлено так звані «феномен середньолетальних доз», у діапазоні яких позитивний ефект трансплантацій кісткового мозку не проявлявся, а був наявним при більш високих абсолютно летальних дозах [1, 2]. При опроміненні ж у високих дозах удавалося досягти тільки деякого збільшення тривалості життя опромінених тварин, хоча й із безумовними ознаками поліпшення кровотворення.

Ці парадоксальні дані про відсутність ефективності трансплантацій кісткового мозку при опроміненні у середньолетальних дозах, коли провідним у патогенезі променевої хвороби є кістковомозковий синдром, автори справедливо пояснювали розвитком імунних конфліктів, оскільки в організмі тварин, опромінених у середньолетальних дозах, зберігаються залишки популяцій імунокомпетентних клітин, а при великих дозах опромінення імунітет реципієнта повністю гине [3–5]. Справа в тому, що впродовж десятиріч як донорський трансплантат використовували недиференційовану тканину кісткового мозку, яка містить різні клітинні популяції з великою кількістю антигенних локусів. Частково цими причинами пояснюються іноді неуспішні спроби пересаджень кісткового мозку хворим, зокрема при лікуванні ліквідаторів катастрофи на ЧАЕС із кістковомозковою формою гострої променевої хвороби [6, 7]. Подоланню гістонесумісності при трансплантаціях кісткового мозку присвячені численні дослідження, однак ще й досі ця проблема залишається далекою від розв'язання [8, 9].

В останнє десятиріччя, завдяки прогресу у клітинній та молекулярній біології, з'явилася можливість отримання диференційованих клітинних ліній з кісткового мозку. Це відкрило нові перспективи для лікування уражень кровотворення, зокрема, й при дії іонізуючої радіації. Описані результати експериментальних досліджень, коли при пересаджуванні ізольованих компартментів кістковомозкових клітин різного походження були отримані як лінійні, так і нелінійні ефекти залежно від реакцій гемопоезу від дози радіації, але не відзначено імунних конфліктів [10, 11]. Однак, незважаючи на широке використання трансплантацій стовбурових клітин кісткового мозку (СККМ) для

відновлення кровотворення при лікуванні різних захворювань, у тому числі мієлодпресій променевого генезу, досі чітко не визначені кількість і типи клітин, дозове навантаження, ступінь мієлодпресії, при яких відбувається швидке та стабільне відновлення гемопоезу.

З огляду на викладене вище, метою даної роботи стало вивчення ефективності трансплантації стовбурових клітин кісткового мозку у щурів, які зазнали дії рентгенівського опромінення в різних дозах.

## Методика дослідження

В експерименті були використані статевозрілі щури-самці лінії Вістар масою 180–200 г.

Загальне опромінювання тварин проводили на рентгенівському апараті РУМ-17М у спеціальних плексигласових камерах при таких технічних умовах: напруга струму на трубці U — 190 кВ; анодний струм I — 10 мА; фільтри — 0,5 мм Cu + 1 мм Al; тубус F = 40 см; поле — 20 × 20 см.

Дозиметричне обладнання: вимірювання виконували універсальним дозиметром UNIDOS у комплекті з циліндричною іонізувальною камерою TW 30001–2127 у повітрі та на дозиметричному парафіновому фантомі щура з масою 190 г.

Дослідження проводили при використанні доз загального опромінення 3,5, 5,0 та 6,5 Гр.

Кістковий мозок виділяли шляхом аспірації зі стегнових кісток лабораторних білих щурів. Клітинну культуру для трансплантації готували згідно з раніше описаними методами. Культуральне середовище містило стандартне середовище DNEM/F12 з додаванням фетальної бичачої сироватки (FBS), L-глутаміну, NEAA (non-essential amino acids) і 50 мкг/мл гентаміцину (всі реактиви фірми Sigma, США). Клітинну завесь розводили в середовищі Хенкса з розрахунку 1 млн клітин в 1 мл. Підрахунок клітин проводили в камері Горяєва [12].

Отриману клітинну завесь (1,0 млн клітин в 1 мл) піддослідним щурам вводили внутрішньо через 24 год. після опромінювання. В класичних радіобіологічних дослідах було показано, що даний термін уведення СККМ є оптимальним для малих лабораторних тварин [2].

Піддослідні тварини були розподілені на групи (по 20 тварин у кожній):

1. Контрольна група — «удаване» опромінення
2. Опромінення в дозі 3,5 Гр
3. Опромінення в дозі 5,0 Гр
4. Опромінення в дозі 6,5 Гр
5. Опромінення в дозі 3,5 Гр + СККМ
6. Опромінення в дозі 5,0 Гр + СККМ
7. Опромінення в дозі 6,5 Гр + СККМ

Вживаність піддослідних тварин оцінювали щодня протягом 30 діб.

Підрахунок клітинних елементів периферичної крові здійснювали на 1, 3, 7, 14, 21-шу та 30-ту добу згідно з уніфікованими методиками [13].

Піддослідних щурів виводили з експерименту відповідно до загальноприйнятих правил евтаназії [14].

Статистично одержані результати опрацьовували на ПК за допомогою пакета програм Statistica. Для аналізу вживаності опромінених тварин, середньої тривалості життя (СТЖ) щурів, які загинули, піків смертності користувалися програмою Survival analysis з цього пакета програм. Вірогідність різниці при порівнянні показників оцінювали за допомогою критерію Log-rank test.

Вплив трансплантації СККМ на динаміку виживаності опромінених експериментальних тварин  
*Influence of bone marrow stem cell transplantation on the dynamics of survival of the exposed animals*

| Група тварин | Вид впливу    | Кількість тварин, n | Загибель тварин по періодах, діб |      |       |       | Кількість живих тварин на 30-ту добу, абс. / % | СТЖ загиблих тварин, діб |
|--------------|---------------|---------------------|----------------------------------|------|-------|-------|--|--------------------------|
|              |               |                     | 1-7                              | 7-14 | 14-21 | 21-30 |  |                          |
| 1            | 3,5 Гр        | 20                  | 1                                | 4    | 1     | -     | 14/70  | 24,65 ± 1,95             |
| 1 тр         | 3,5 Гр + СККМ | 20                  | 1                                | 2    | 1     | -     | 16/80  | 26,90 ± 1,46             |
| 2            | 5,0 Гр        | 20                  | 2                                | 5    | 2     | -     | 11/55  | 19,70 ± 2,29             |
| 2 тр         | 5,0 Гр + СККМ | 20                  | 1                                | 2    | 2     | -     | 15/75*   | 25,75 ± 1,83 *           |
| 3            | 6,5 Гр        | 20                  | 3                                | 8    | 1     | 2     | 6/30   | 16,75 ± 2,27             |
| 3 тр         | 6,5 Гр + СККМ | 20                  | 2                                | 5    | 2     | 2     | 9/45   | 20,65 ± 2,22             |

Примітки: 1 тр, 2 тр і 3 тр — групи тварин з трансплантацією СККМ; 1, 2, 3 — контрольні без лікування. \* — різниця вірогідна ( $p < 0,05$ ) між показниками груп 2 і 2 тр.

## Результати та їх обговорення

У результаті проведених експериментів було встановлено, що опромінення в дозах 3,5, 5,0 та 6,5 Гр відповідає для даних тварин летальним дозам ЛД 30/30, ЛД 50/30 та ЛД 70/30 відповідно.

Дані про виживаність опромінених щурів після трансплантації СККМ наведені у табл. 1.

Як видно з даних табл. 1, уведення СККМ щурам, яких опромінювали у дозі 3,5 Гр група 1 тр, суттєво не впливало на їх виживаність та динаміку загибелі. Виживаність складала 80 проти 70 % у групі 1 (контроль без лікування). Загибель тварин спостерігалася у такі ж строки, як і в контролі, але пік максимальної смертності, який припадав на другий тиждень після радіаційної дії, був дещо нівельованим — у цей час загинули тільки 10 % тварин. У цій групі СТЖ не відрізнялася від величини показника у контролі.

Трансплантація СККМ тваринам, які були опромінені у дозі 5,0 Гр (група 2 тр), помітніше підвищувала виживаність, яка складала 75 % — на 20 % більше, ніж у контрольній групі 2. Середня тривалість життя теж зростала — на 6 днів — і складала (25,75 ± 1,83) діб проти (19,70 ± 2,29) діб у контролі ( $p < 0,05$ ).

У групі 2 тр уведення СККМ також не впливало на терміни загибелі опромінених щурів, однак можна відзначити, що у період найбільших променевих реакцій та, відповідно, максимальної летальності (другий тиждень після опромі-

нення) у цій групі тварин летальність складала лише 10 % (проти 25 % у групі без лікування).

У групі експериментальних тварин, опроміненіх у дозі 6,5 Гр (група 3 тр), після уведення СККМ також спостерігалася тенденція до зниження летальності на 30-ту добу та підвищення показника СТЖ. Летальність у групі щурів, які отримували СККМ, складала 55 % (у контрольній групі без трансплантації — 70 %,  $p > 0,05$ ), а СТЖ — (20,65 ± 2,22) діб проти (16,75 ± 2,27),  $p > 0,05$ . Суттєвих змін у динаміці загибелі опромінених тварин у цій групі після введення СККМ не спостерігалася.

Опромінення у різних дозах приводило до змін величин показників периферичної крові. Для даних тварин були характерні такі вихідні значення показників периферичної крові: гемоглобін: (131,21 ± 2,56) г/л; еритроцити: (5,74 ± 0,15) × 10<sup>12</sup>/л; лейкоцити: (7,34 ± 0,36) × 10<sup>9</sup>/л. З них: нейтрофіли — 25 %, моноцити — 6–8 %, лімфоцити — 65 %.

Можна зазначити, що трансплантація СККМ тваринам, які були опромінені у дозі 3,5 Гр (група 1 тр), певно поліпшувала стан їх кровотворення (рис. 1, 2).

З наведених даних видно, що трансплантація СККМ у групі 1 тр, головним чином, впливала на відновлення білого паростка кровотворення. Так, число лейкоцитів у щурів з трансплантацією СККМ на 7-му та 14-ту добу майже вдвічі ( $p < 0,05$ ) перевищувало значення цього показника у відповідні строки в групі опроміненіх щурів без лікування. Трансплантація

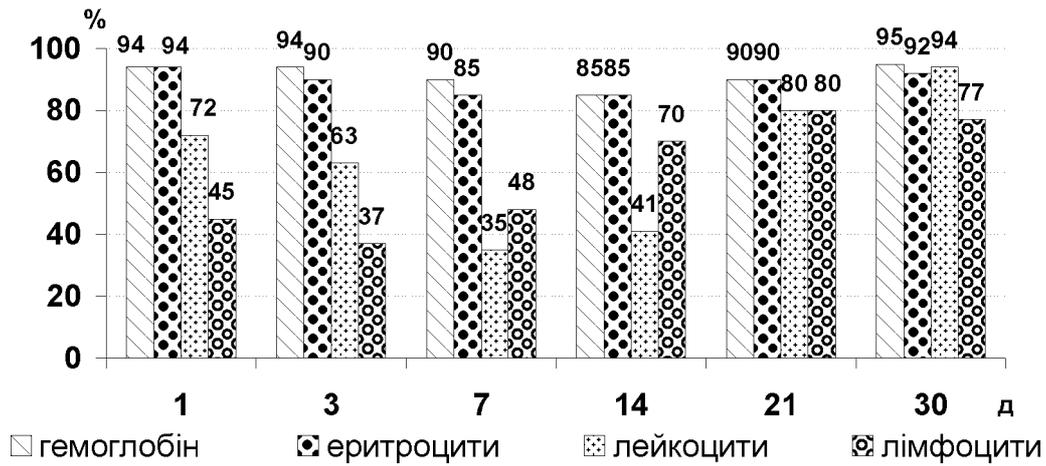


Рис. 1. Вплив іонізуючої радіації на величини показників периферичної крові щурів при дозі 3,5 Гр (тут і далі: відсоток від вихідного рівня)

Fig. 1. Influence of ionizing radiation on the peripheral blood of the rats at 3.5 Gy (% of the initial level)

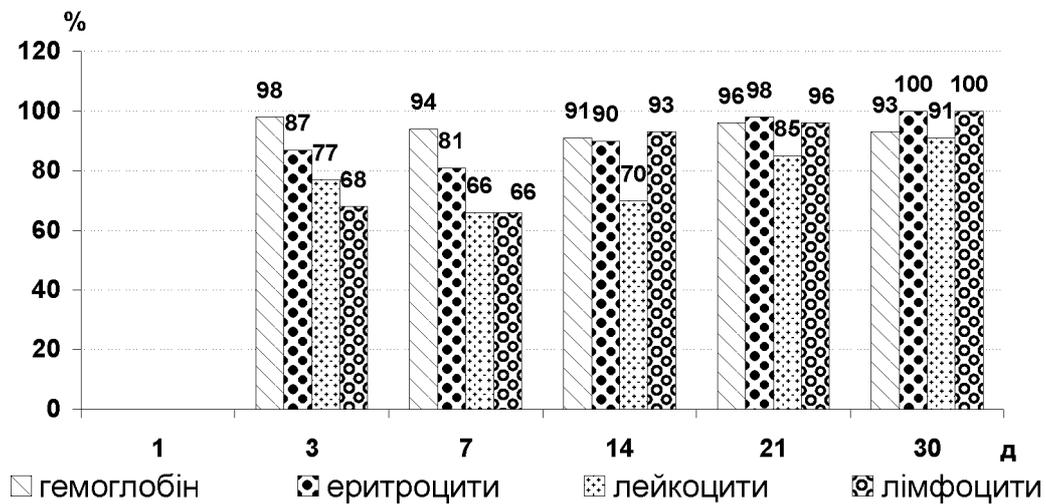


Рис. 2. Вплив трансплантації СККМ на величини показників периферичної крові щурів при опроміненні в дозі 3,5 Гр

Fig. 2. Influence of bone marrow stem cell transplantation on the peripheral blood of the exposed rats at 3.5 Gy (% of the initial level)

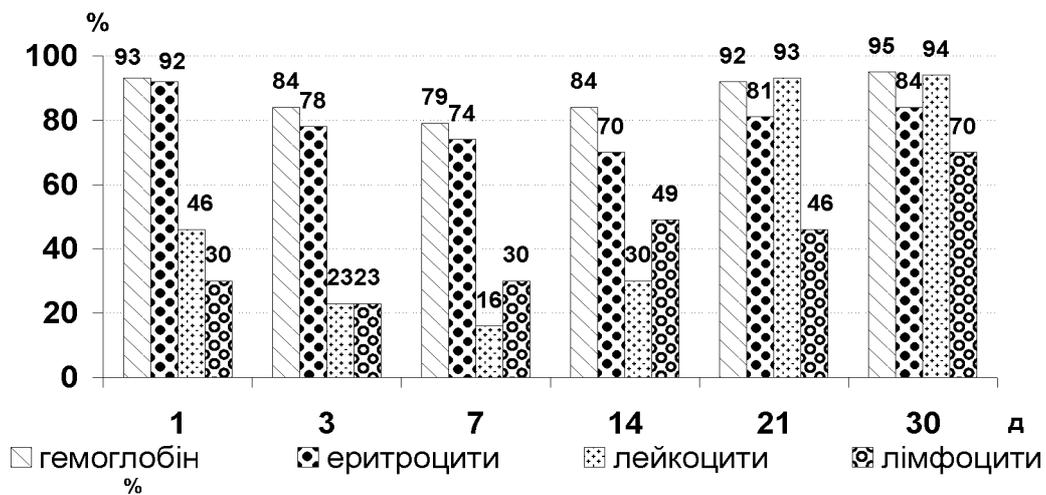


Рис. 3. Вплив іонізуючої радіації на величини показників периферичної крові щурів при дозі 5,0 Гр

Fig. 3. Influence of ionizing radiation on the peripheral blood of the rats at 5.0 Gy (% of the initial level)

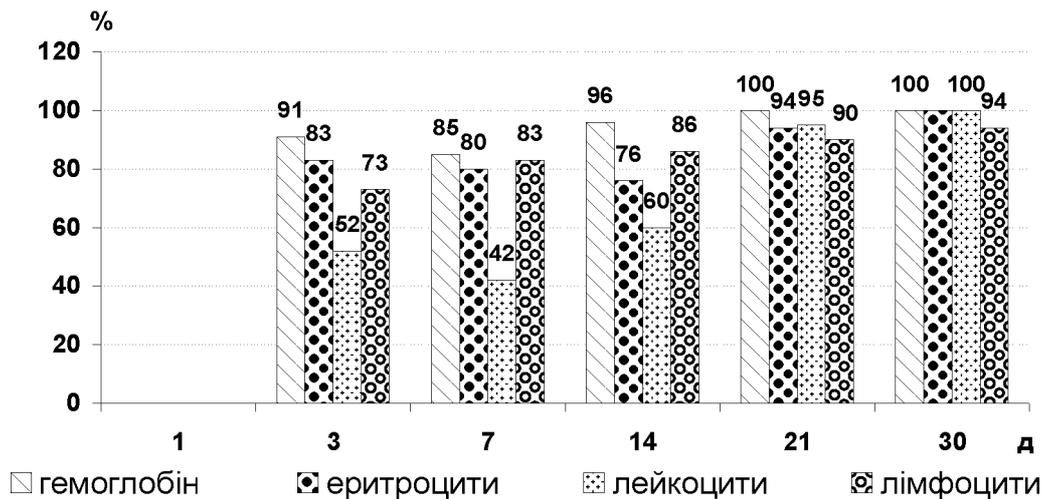


Рис. 4. Вплив трансплантації СККМ на величини показників периферичної крові щурів при опроміненні в дозі 5,0 Гр  
 Fig 4. Influence of bone marrow stem cell transplantation on the peripheral blood of the exposed rats at 5.0 Gy (% of the initial level)

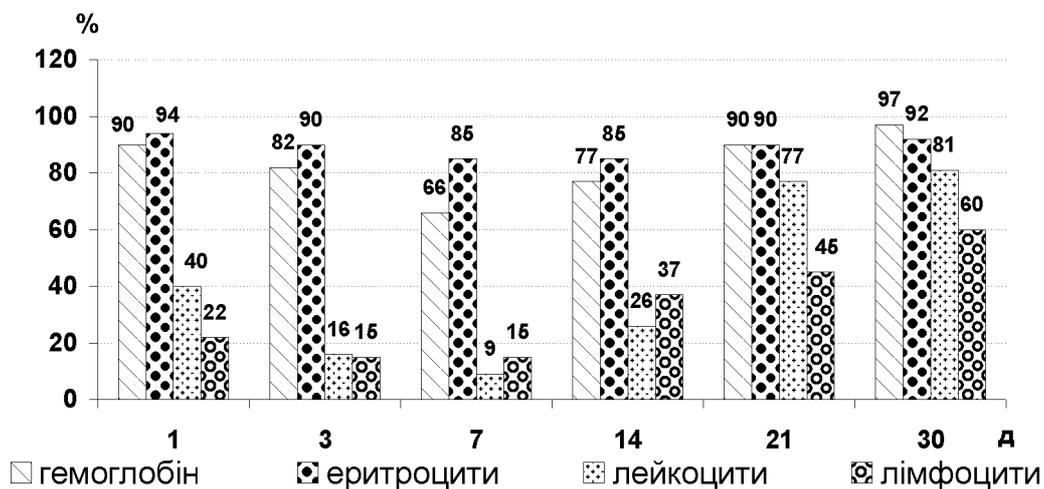


Рис. 5. Вплив іонізуючої радіації на значення показників периферичної крові щурів при дозі 6,5 Гр  
 Fig. 5. Influence of ionizing radiation on the peripheral blood of the rats at 6.5 Gy (% of the initial level)

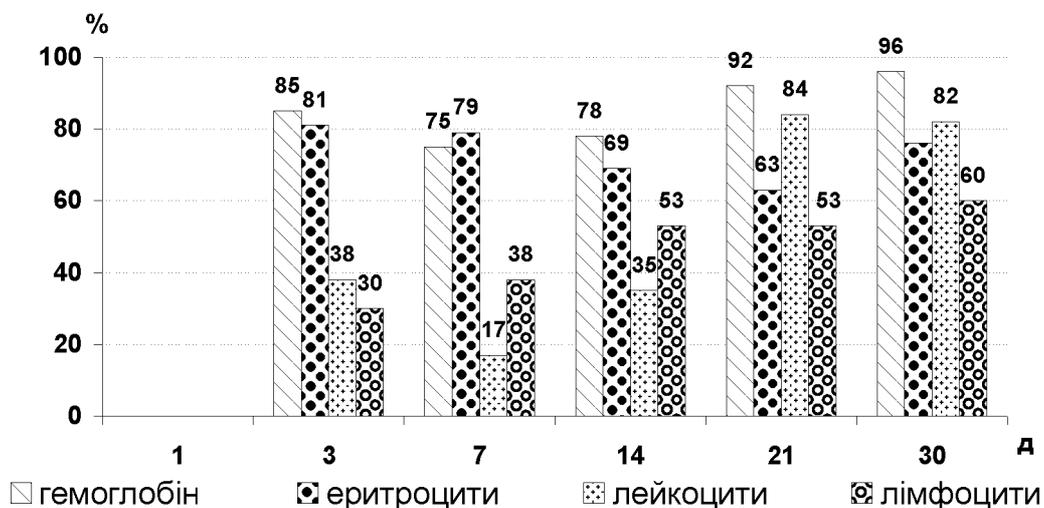


Рис. 6. Вплив трансплантації СККМ на значення показників периферичної крові щурів при опроміненні в дозі 6,5 Гр  
 Fig 6. Influence of bone marrow stem cell transplantation on the peripheral blood of the exposed rats at 6.5 Gy (% of the initial level)

СККМ також поліпшувала відсоткові співвідношення у лейкоцитарній формулі. При цьому рівень гемоглобіну і еритроцитів практично не змінювався порівняно з контролем упродовж усього періоду спостережень.

Введення СККМ щурам, що були опромінені у дозі 5,0 Гр, більш виразно впливало на відновлення їх кровотворення (рис. 3, 4).

Прояви лейкопенії у групі 2 тр порівняно з групою 2, в якій кількість лейкоцитів досягала свого мінімуму на другий тиждень спостережень (16 та 30 % від рівня норми), суттєво знижувалися. Кількість лейкоцитів у лікованих СККМ щурів була на 7-му та 14-ту добу удвічі більшою — 42 та 60 % відповідно. Крім того, у групі 2 тр вірогідно знижувалася абсолютна і відносна лімфопенія. У цій групі тварин не спостерігалось розвитку пострадіаційної анемії (ознаки якої виразно простежуються в контрольній групі без лікування), тобто рівень гемоглобіну і кількість еритроцитів вірогідно не відрізнялися від значень нормальних показників.

Введення СККМ тваринам, опромінені у дозі 6,5 Гр, також певною мірою позитивно впливало на кількісний склад і відсоткове співвідношення формених елементів крові (рис. 5, 6).

При цій дозі (група 3 тр) введення СККМ приводило до пом'якшення пострадіаційної анемії, проте збільшення вмісту гемоглобіну і кількості еритроцитів не мало вірогідної різниці з показниками контрольної групи.

Вміст лейкоцитів у тварин групи 3 тр вірогідно підвищувався у перший тиждень спостережень порівняно з показниками контрольної групи 3. До позитивного впливу СККМ можна віднести також тенденцію до відновлення відсоткового складу лейкограми. Проте повного відновлення гемограми у тварин, опромінені у дозі 6,5 Гр, до кінця періоду спостережень не відбувалося.

Таким чином, отримані дані демонструють, що вплив трансплантації стовбурових клітин кісткового мозку опромінені тваринам якоюсь мірою залежав від дози опромінення. Введення СККМ тваринам, опромінені у діапазоні мінімально летальних доз (3,5 Гр), помітно не впливало на їх виживаність, імовірно через те, що при цій дозі опромінення кістковомозковий

синдром не є провідним клінічним синдромом [15], а загибель порівняно невеликого числа тварин зумовлена іншими причинами.

Інша картина спостерігалась при опроміненні тварин у діапазоні напівлетальних доз, коли порушення кровотворення у ссавців є основною причиною їх загибелі [4, 16]. Так, при опроміненні піддослідних щурів у напівлетальній дозі 5,0 Гр трансплантація СККМ вірогідно збільшувала виживаність опроміненіх тварин (на 20 %,  $p < 0,05$ ).

При більшій дозі опромінення (6,5 Гр) введена доза стовбурових клітин дещо підвищувала показники виживаності, однак цей ефект не був вірогідним.

Аналогічна дозова залежність виявляється і при аналізі впливу трансплантації СККМ на стан системи кровотворення опроміненіх тварин.

Хоча введення стовбурових кістковомозкових клітин, як і можна було очікувати, поліпшувало стан периферичної крові в опроміненіх тварин при всіх застосованих дозах, але значний та вірогідний позитивний ефект на кровотворення (а отже, на виживаність) було отримано тільки при опроміненні у напівлетальній дозі (5,0 Гр). Це можна пояснити тим, що в цьому діапазоні доз радіації головною причиною радіаційної загибелі тварин є кістковомозковий синдром [4, 15, 16]. При менших дозах опромінення замісна терапія стовбуровими клітинами кісткового мозку не має патогенетичної доцільності, бо фатальні порушення кровотворення не розвиваються при цих дозах радіації. При максимально летальних дозах іонізуючої радіації лікування тільки шляхом трансплантації кістковомозкових клітин є недостатнім, оскільки при цьому не лише порушення кровотворення зумовлюють патогенез гострої променевої хвороби, але до них приєднуються кишковий, церебральний та інші синдроми радіаційного ураження [5, 15]. Отже в цих випадках для досягнення позитивного ефекту потрібне не тільки відновлення кровотворення, а й застосування комплексу лікувальних патогенетичних засобів.

Узагальнення результатів проведених досліджень щодо впливу трансплантації стовбу-

рових клітин кісткового мозку на виживаність та стан периферичної крові щурів, опромієних у різних дозах, дозволяє зробити висновок, що найбільші позитивні ефекти цього виду лікування проявлялися при опроміненні тварин у діапазоні напівлетальних доз.

## ВИСНОВКИ

1. Трансплантація стовбурових клітин кісткового мозку позитивно впливала на виживаність опромієних тварин, при цьому вірогідне підвищення виживаності (на 20 %) спостерігалось при опроміненні у напівлетальній дозі (5,0 Гр).

2. Трансплантація стовбурових клітин кісткового мозку значно поліпшувала стан кровотворення піддослідних тварин при всіх застосованих дозах опромінення — зменшувалися прояви анемії, лейкопенії, нормалізувався склад лейкограми. Найбільш виражені ефекти у відновленні кровотворення зафіксовані при лікуванні тварин, опромієних у напівлетальній дозі (5,0 Гр).

3. Одержані дані позитивного впливу трансплантації стовбурових клітин кісткового мозку на відновлення кровотворення підтверджують доцільність використання цього методу при мієлодепресіях радіаційного генезу.

## Література

1. Бутомо Н.В. Трансплантация костного мозга при лучевых поражениях. — Л.: Медицина, 1970. — 191 с.
2. Дегтярева И.И. Механизм действия трансплантации костного мозга облученным животным. — К.: Здоров'я, 1973. — 100 с.
3. Груздев Г.П. Проблема поражения кроветворной ткани при острой лучевой патологии. — М.: Медицина, 1968. — 140 с.
4. Жербин Е.А., Чухловин А.Б. Радиационная гематология. — М.: Медицина, 1989. — 176 с.
5. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. Радиобиология человека и животных. Учеб. пособие для студентов медицинских и биологических специальностей ВУЗов. / Под ред. С.П. Ярмоненко. — М.: Высш. шк., 2004. — 549 с.
6. Гуськова А.К., Баранов А.Е., Барабанова А.В. и др. // Мед. радиол. — 1987. — № 12. — С. 3—18.
7. Гуськова А.К., Баранов А.Е. // Там же. — 1991. — № 8. — С. 31—37.
8. Ikehara S. // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 2005. — Vol. 1051. — P. 626—634.
9. Ikehara S. // Bone Marrow Transplant. — 2003. — Vol. 32, №1. — P. 372—375.
10. Rebel V.I., Miller C.L., Spinelli J.J. et al. // Biol. Blood. Marrow. Transplant. — 1995. — Vol. 1, №1. — P. 32—39.
11. Schwarte S., Hoffmann M.W. // Methods Mol. Med. — 2005. — Vol. 109. — P. 445—458.

12. Щегельская Е.А., Микулинский Ю.Е., Ревущин А.В. и др. // Онтогенез. — 2005. — Т. 34, № 3. — С. 228—235.
13. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — С. 106—125.
14. Резніков О.Г., Соловйов А.І., Добреля Н.В., Стефанов О.В. Метод. рекомендації // Вісн. фармакол. та фармац. — 2006. — № 7. — С. 47—60.
15. Гродзинський Д.М. Радиобіологія. — К.: Либідь, 2000. — 448 с.
16. Острая лучевая болезнь. Рук-во по гематол. / Под ред. А.И. Воробьева. — М., 1985. — Т.1. — С. 401—410.

Надходження до редакції 26. 04. 2007.

Прийнято 01. 06. 2007.

Адреса для листування:  
Сімонова Лариса Іванівна,  
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМНУ,  
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна